

SÉRIE A. N° 184.

N° D'ORDRE :

207

THÈSES

PRÉSENTÉES

à la Faculté des Sciences de l'Université de Paris

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PAR

Madame Marguerite HINGLAIS

Licenciée ès-Sciences.

1^{re} THÈSE. — Contribution à l'étude de la répartition du phosphore dans les organes de divers Vertébrés.

Phosphore total. Phosphore lipidique. Rapport $\frac{\text{phosphore lipidique}}{\text{phosphore total}}$

2^e THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 22 JAN 1928 1928 devant la Commission d'Examen

Président : M. LAPICQUE,

Examineurs : { M. JAVILLIER,
M. COMBES.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE LUCIEN DECLUMB

1928

THÈSES

PRÉSENTÉES

à la Faculté des Sciences de l'Université de Paris

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PAR

Madame Marguerite HINGLAIS

Licenciée ès-Sciences.

1^{re} THÈSE. — Contribution à l'étude de la répartition du phosphore dans les organes de divers Vertébrés.

Phosphore total. Phosphore lipidique. Rapport $\frac{\text{phosphore lipidique}}{\text{phosphore total}}$

2^e THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le

1928 devant la Commission d'Examen

Président : M. LAPICQUE,

Examineurs : { M. JAVILLIER,
M. COMBES.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE LUCIEN DECLOMBE

1928

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen..... C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.
Doyens honoraires... P. APPELL, M. MOLLIARD.

Professeurs honoraires.
 P. PUISEUX.
 V. BOUSSINESQ.
 A. JOANNIS.
 H. LE CHATELIER.
 H. LEBESGUE.
 A. FERNBACH.
 A. LEDUC.

EMILE PICARD..... Analyse supérieure et algèbre supérieure.
 G. KOENIGS..... Mécanique physique et expérimentale.
 E. GOURSAT..... Calcul différentiel et calcul intégral.
 P. JANET..... Electrotechnique générale.
 F. WALLERANT... Minéralogie.
 H. ANDOYER..... Astronomie.
 P. PAINLEVÉ..... Mécanique analytique et mécan. céleste.
 Gabriel BERTRAND. Chimie biologique.
 M^{me} P. CURIE..... Physique générale et radioactivité.
 M. CAULLERY..... Zoologie (Evolution des êtres organisés).
 G. URBAIN..... Chimie minérale.
 Emile BOREL..... Calcul des probabilités et Phys. mathém.
 L. MARCHIS..... Aviation.
 Jean PERRIN..... Chimie physique.
 Rémy PERRIER... Zoologie (Enseignement P. C. N.).
 H. ABRAHAM..... Physique.
 M. MOLLIARD..... Physiologie végétale.
 E. CARTAN..... Géométrie supérieure.
 L. LAPICQUE..... Physiologie générale.
 E. VESSIOT..... Théories des fonctions et des transformat.
 A. COTTON..... Physique générale.
 J. DRACH..... Application de l'analyse à la géométrie.
 Charles FABRY... Physique.
 Charles PÉREZ... Zoologie.
 Léon BERTRAND... Géologie structurale et géologie appliquée.
 R. LESPIEAU..... Théories chimiques.
 E. RABAUD..... Biologie expérimentale.
 P. PORTIER..... Physiologie comparée.
 E. BLAISE..... Chimie organique.
 P.-A. DANGEARD } Botanique.
 P. MONTEL..... Mécanique rationnelle.
 P. WINTREBERT... Anatomie et histologie comparées.
 O. DUBOSQ..... Biologie maritime.
 G. JULIA..... Mathématiques générales.
 A. JOB..... Chimie générale.
 A. MAILHE..... Etude des combustibles.
 L. LUTAUD..... Géographie physique et géologie dynamique.
 Eugène BLOCH... Physique théorique et physique céleste.
 Henri VILLAT... Mécanique des fluides et applications.
 Ch. JACOB..... Géologie.
 P. PASCAL..... Chimie appliquée.

Professeurs...



E. HÉROUARD..... Zoologie.
 E. PÉCHARD..... Chimie (Enseigt P. C. N.)
 V. AUGER..... Chimie analytique.
 M. GUICHARD..... Chimie minérale.
 A. GUILLET..... Physique.
 G. MAUGUIN..... Minéralogie.
 L. BLARINGHEM... Botanique.
 A. MICHEL-LÉVY.. Pétrographie.
 A. DEREIMS..... Géologie.
 R. DONGIER..... Physique du globe.
 A. DENJOY..... Calcul différentiel et intégral.
 H. BÉNARD..... Physique (P. C. N.).

E. DARMOIS..... Physique.
 G. BRUHAT..... Physique.
 H. MOUTON..... Chimie physique.
 L. JOLEAUD..... Paléontologie.
 M. JAVILLIER..... Chimie biologique.
 A. DUFOUR..... Physique (P. C. N.).
 F. PICARD..... Zoologie (Evolution des êtres organisés).
 ROBERT LÉVY..... Zoologie.
 L. DUNOYER..... Optique appliquée.
 A. GUILLIERMOND. Botanique (P. C. N.).
 A. DEBIERNE..... Radioactivité.

Secrétaire..... Daniel TOMBECK.

JE DÉDIE MA THÈSE :

A MON MARI.

A MON PETIT JEAN-CLAUDE.

A TOUS LES MIENS.

A MON MAITRE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR M. JAVILLIER,

MAITRE DE CONFÉRENCES DE CHIMIE BIOLOGIQUE A LA FACULTÉ
DES SCIENCES DE PARIS,
DIRECTEUR DE LABORATOIRE A L'INSTITUT DES RECHERCHES AGRONOMIQUES.

*Témoignage de ma profonde reconnaissance
et de mon affectueux dévouement,*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A MONSIEUR LE PROFESSEUR L. LAPICQUE,
PROFESSEUR DE PHYSIOLOGIE A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS,
MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE.

*qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence
de cette thèse.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BRINDEAU,
PROFESSEUR DE CLINIQUE OBSTÉTRICALE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE PARIS.

Témoignage de ma respectueuse affection.

INTRODUCTION.

But et Plan du travail (1).

Ce travail est une contribution à l'étude du phosphore dans les organismes, contribution très modeste à l'étude d'un problème extrêmement vaste.

Le phosphore est un des éléments fondamentaux de la matière vivante. On le trouve dans tous les tissus sous les formes les plus diverses : phosphates minéraux, glycérophosphates, lécithines, éthers phosphoriques de sucres, protéides phosphorés, etc...

Cette diffusion du phosphore dans toute matière vivante, le fait qu'il existe des *phospho-glucides*, des *phospho-lipides*, des *phospho-protéides*, c'est-à-dire que le phosphore participe à la constitution de principes immédiats appartenant aux trois grands groupes de composés organiques naturels, tout cela laisse entendre que le phosphore joue un rôle de premier plan dans les processus vitaux.

Nous n'en fournirons ici que deux exemples récents.

HARDEN et YOUNG, en étudiant l'influence catalytique des

(1) Tous les noms d'auteurs cités dans ce Mémoire sont groupés, par ordre alphabétique, dans l'index bibliographique (p. 147) avec les références utiles.

phosphates sur la fermentation alcoolique, ont découvert l'acide hexose-diphosphorique et établi le rôle de ce « composé intermédiaire » au cours du phénomène. Cet exemple parfaitement élucidé a démontré que le phosphore est apte à former, non seulement des composés stables, mais encore à prendre part à la formation transitoire de complexes plus labiles, intermédiaires indispensables de réactions biologiques importantes. Le phosphore acquiert ainsi la valeur d'un élément catalytique.

L'importance de la découverte d'HARDEN et YOUNG se trouva encore accrue lorsqu'EMBDEN et ses élèves eurent mis en évidence la présence d'un acide hexose-phosphorique dans le muscle. Ils établirent que ce corps est ici l'intermédiaire indispensable de la transformation du glucose en acide lactique au cours de la contraction musculaire, et lui donnèrent le nom de lactacidogène. Le phosphore est donc, ici encore, le catalyseur indispensable d'un processus vital fondamental.

Peut-être le phosphore n'est-il pas lié au seul phénomène de dégradation du glucose. Læw a émis l'hypothèse que les acides gras contenus dans la molécule de lécithine, principe phosphoré, s'y introduisaient pour être oxydés, la lécithine devant être considérée comme une « machine à brûler les acides gras ». Bien que cette hypothèse n'ait pas reçu, il est vrai, de confirmation absolue, elle est appuyée par un certain nombre de faits expérimentaux qui plaident en faveur d'un transport continu des graisses au sein de la cellule, particulièrement la cellule hépatique, où se ferait de façon intense cette combustion (LEATHES, HARTLEY, etc...)

FRÄNKEL, VERNON, WARBURG, THUNBERG ont montré d'autre part, dans une série de recherches, que les phosphatides sont éminemment oxydables et peuvent prendre part aux phénomènes d'auto-oxydation cellulaire.

Tous ces travaux s'accordent à voir dans les molécules grasses phosphorées, non pas de simples réserves, mais des molécules actives où le phosphore interviendrait comme catalyseur du métabolisme des acides gras.

Ces données, et d'autres encore, sont en train de rénover l'étude de la biochimie du phosphore. A l'heure actuelle, l'on s'efforce de tous côtés : soit à préciser la constitution des principes immédiats phosphorés (les nombreuses études consacrées à la structure des acides nucléiques sont à citer particulièrement), soit à isoler des composés intermédiaires du métabolisme phosphoré dans le sang ou les organes (éthers phosphoriques de sucres, acide glycérophosphorique, acide diphosphoglycérique, acide phospholactique), soit à mettre en évidence les relations et les équilibres qui s'établissent dans les tissus et les humeurs entre tous les principes immédiats phosphorés, tant à l'état normal qu'à l'état pathologique.

C'est à ce troisième ordre d'idées que se rattache un certain nombre des travaux que M. JAVILLIER a publiés dans ces dernières années.

M. JAVILLIER s'est préoccupé, pour atteindre au but qu'il se proposait, de trouver ou de perfectionner certaines méthodes expérimentales. Il a pu établir avec ses collaborateurs plusieurs faits intéressants : énoncer, par exemple, la notion de l'existence d'un « indice de phosphore nucléaire » des tissus ; montrer l'utilité, au point de vue de la

« définition chimique » des tissus, de la valeur de certains rapports :

$$\frac{P \text{ nucléique}}{P \text{ total}}, \quad \frac{P \text{ lipidique}}{P \text{ total}}, \quad \frac{P \text{ nucléique}}{P \text{ lipidique}},$$

mettre en évidence les variations des indices et des rapports au cours de certains états physiologiques (croissance ; carence en facteur A liposoluble) ; appliquer aussi les méthodes à certaines fins pratiques (essai des poudres organothérapiques ; analyse de certaines matières alimentaires) ;

M. le Professeur JAVILLIER nous a accueillie dans son Laboratoire du Centre de Recherches sur l'Alimentation à l'*Institut des Recherches agronomiques*, à la fin de 1923 et il nous a associée à ses recherches. A ce moment, l'étude qu'il poursuivait ne faisait encore que débiter, si bien que nous avons participé aux premiers essais, éprouvé certaines techniques, obtenu les résultats initiaux et participé à quelques communications (1). Depuis lors, nous avons publié quelques-unes des observations qui nous furent plus particulièrement personnelles (2) et participé à une note récente (3).

Nous groupons dans le mémoire que nous présentons comme thèse de Doctorat universitaire les essais dont notre Maître nous avait confié l'exécution et les résultats que ceux-ci nous ont fournis.

(1) Sur un nouveau principe d'essai des poudres organothérapiques, *Soc. de Pharmacie*, 4 février 1925 et *Journ. de Pharm. et de Chim.*, t. I (8^e série), p. 513, 1925.

L'analyse des poudres organothérapiques, leur teneur en P total, lipidique et nucléique. *Bull. Sc. Pharm.*, t. 32, p. 641, 1925.

(2) Sur l'application de la méthode de M. COPAUX au dosage de petites quantités de P dans les tissus. *Bull. Soc. Chim. biol.*, t. 9, p. 540, 1927.

(3) Comparaison entre diverses espèces de vertébrés. *Bull. Soc. Chim. biol.*, t. 10, p. 327, 1928.

Notre part personnelle comporte :

Des essais de techniques ;

Des séries de dosages de phosphore total et de phosphore lipidique dans des tissus très variés ;

La détermination des valeurs du rapport $\frac{P \text{ lipidique}}{P \text{ total}}$ dans ces tissus ;

Des observations sur l'intérêt de ces données dans l'analyse des poudres d'organes utilisées en thérapeutique.

Nous aurions poursuivi nos recherches suivant le plan plus vaste qui nous avait été suggéré et nous aurions tout au moins rédigé depuis longtemps des travaux dont l'essentiel date de 1923-1925, sans attendre le développement que la question a prise grâce à M. JAVILLIER et ses collaborateurs, ou à d'autres chercheurs (1) si nous n'avions été arrêtée dans notre travail par des raisons d'ordre familial.

Nous remercions vivement notre Maître de nous avoir associée à ses premières recherches et de nous avoir encouragée à écrire ce mémoire malgré les difficultés de tous ordres qui se sont présentées devant nous.

Nous sommes heureuse également d'adresser nos remerciements à M. le Professeur KRINDEAU qui nous a accueillie depuis plusieurs années dans son laboratoire de la Faculté de Médecine, où ont été exécutés un certain nombre des dosages rapportés dans ce travail.

(1) Parmi ceux-ci nous citerons particulièrement M. Théophile CAHN qui, dans sa toute récente thèse de doctorat, s'est occupé, entre autres notions relatives aux équilibres cellulaires, du rapport $\frac{P \text{ lipidique}}{P \text{ total}}$.

Voici le plan que nous allons suivre dans cet exposé.

CHAPITRE I. — *Le dosage du phosphore en chimie biologique.*

Etude de trois semi-microméthodes récentes (POSTERNAK, EMBDEN-JAVILLIER, COPAUX). Leur degré de précision. Leurs avantages et leurs inconvénients.

Etude et perfectionnement de la méthode de M. COPAUX en vue de l'appliquer au dosage de très petites quantités de phosphore.

CHAPITRE II. — *La destruction des tissus en vue du dosage du phosphore.*

Méthodes par voie sèche et par voie humide. Choix de la méthode sulfonitrique.

CHAPITRE III. — *Résultats du dosage du phosphore dans les organes de divers vertébrés.*

Résultats rapportés à cent parties d'organes secs et à cent parties d'organes frais.

Considérations sur les résultats obtenus.

CHAPITRE IV. — *Extraction des lipides et dosage du phosphore lipidique.*

- a) Prélèvement des organes. Leur fixation.
- b) Extraction des lipides : choix d'une méthode.
- c) Dosage du phosphore lipidique.

CHAPITRE V. — *Résultats du dosage du phosphore lipidique dans les organes de divers vertébrés.*

Résultats rapportés à cent parties d'organes secs et à cent parties d'organes frais.

Considérations sur les résultats obtenus.

CHAPITRE VI. — *Le rapport $\frac{P_{\text{lipidique}}}{P_{\text{total}}}$.*

Grandeur de ce rapport dans les divers tissus.

CHAPITRE VII.— *Application des données précédentes et, d'une façon générale, de l'étude des bilans et rapports phosphorés, à la caractérisation et à l'essai des poudres organothérapiques.*

CHAPITRE VIII. — *Conclusions générales.*

CHAPITRE PREMIER.

Le dosage du Phosphore en chimie biologique. Examen de trois semi-microméthodes récentes (Posternak, Embden-Javillier, Copaux). Recherches personnelles sur l'une d'elles.

Les quantités de phosphore que les biochimistes ont à doser étant fréquemment très petites, soit qu'il s'agisse de milieux réellement peu riches en cet élément, soit que les prises d'essai ne puissent être que restreintes, les microméthodes trouvent ici leur application. Ces microméthodes sont gravimétriques, volumétriques, colorimétriques, ou opacimétriques. Les unes et les autres ont la faveur des expérimentateurs bien que leur valeur soit assez inégale (1).

Pour notre part, nous nous sommes entraînée à la pratique de trois méthodes et nous avons fait des observations personnelles sur l'une d'elles.

(1) Un rappel général des microméthodes a été fait par MM. JAVILLIER et DJELATIDÈS dans un mémoire récent. *Bull. Soc. de Chim. biol.*, t. 10, p. 342, 1928. Les auteurs indiquent leur nouvelle microméthode volumétrique dont il ne sera pas question ici puisque nous ne l'avons pas appliquée personnellement.

1° Méthode de M. Posternak.

Cette méthode consiste, en principe, à précipiter l'acide phosphorique sous forme de phosphomolybdate d'ammonium, à isoler le complexe, le dissoudre dans l'ammoniaque et le transformer en phosphomolybdate de baryum insoluble. Ce dernier est recueilli et pesé après séchage et calcination.

Au point de départ de la méthode une difficulté se présente, qui est d'obtenir un phosphomolybdate d'ammonium de composition constante. M. POSTERNAK a montré que, parmi les facteurs qui influent sur la constitution du phosphomolybdate, le principal est la nature des ions acides du milieu. Pour aboutir à des résultats constants, il faut opérer en milieu soit exclusivement nitrique, soit exclusivement sulfurique.

Quand il s'agit d'un tissu où l'on se propose de doser le phosphore, si l'on a pratiqué, comme nous le faisons personnellement, la destruction sulfo-nitrique, l'on dispose, pour le dosage, d'une solution ne renfermant plus, au terme de l'opération, que de l'acide sulfurique, l'acide nitrique ayant été éliminé.

C'est donc en milieu exclusivement sulfurique que nous pratiquons les dosages, en respectant les détails techniques indiqués par M. POSTERNAK.

TECHNIQUE. — On opère la destruction du tissu par la méthode sulfo-nitrique, en ayant soin de noter la quantité de SO^4H^2 employée. Cette quantité ne doit pas dépasser 5 cm³.

L'opération terminée, la solution sulfurique est diluée avec de l'eau pure, et portée à l'ébullition pour chasser les dernières traces d'acide nitrique, puis on laisse refroidir et on complète à un volume déterminé dans un ballon jaugé.

Ce volume doit être tel que 10 cm³ de la liqueur renferment 1 cm³ environ de SO⁴H² (à moins de cas spéciaux) (1).

On prélève et on verse dans un vase à précipitation chaude sans bec de 100 cm³ :

Liqueur phosphorée sulfurique.	10 cm ³
Solution de SO ⁴ Am ² à 20 p. 100..	10 —

On chauffe sur une toile d'amiante jusqu'à ébullition commençante. On retire du feu et l'on verse dans le verre du molybdate d'ammonium à 10 ‰ :

5 cm ³ lorsque la teneur en phosphate est inférieure à 2 mgr.	
10 — — — — —	supérieure à 2 mgr.

On laisse au repos cinq minutes, puis on agite avec une baguette de verre rodée en frottant les parois du vase. Nouveau repos de cinq minutes. Nouvelle agitation. Nouveau repos de cinq minutes (2).

La précipitation est ainsi totale en 1/4 d'heure et le précipité facilement filtrable.

Filtration et lavage.

Le précipité ayant été ainsi obtenu, on décante sur un filtre rond sans plis, à grain fin, de 4 à 7 cm. de diamètre placé sur un entonnoir de Joulie.

(1) La teneur en phosphore de la prise d'essai ne doit pas dépasser 5 mgr. Si elle est supérieure on diluera de moitié et la prise d'essai de 10 cm³ ne contenant plus que 0 cm³,5 de SO⁴H², on réduira de moitié la quantité de SO⁴Am² ajoutée.

Si, au contraire, la solution est peu riche en phosphore et qu'on l'ait faite plus concentrée, on devra ajouter d'autant plus de SO⁴Am² que la prise d'essai contient plus de SO⁴H².

POSTERNAK a montré, en effet, qu'on peut ainsi faire varier dans des limites raisonnables la teneur du liquide en SO⁴H², sa concentration en SO⁴Am², son volume total, sans modifier sensiblement la composition du phosphosulfomolybdate précipité.

(2) Il n'y a aucun inconvénient à abandonner plus longtemps le précipité au contact des liqueurs mères.

On peut, si l'on préfère, agiter une seule fois après un repos de 5 minutes et porter le vase pendant 1/2 heure à l'étuve à 40-50 degrés,

La liqueur est recueillie dans un ballon très propre, afin de pouvoir être rejetée sur le filtre si quelque trace du précipité venait à le traverser. La plus grosse partie du précipité, très dense, reste d'ailleurs au fond du verre.

Le lavage, très important, se fait avec une solution de NO^3Am à 5 %.

On prend, à l'aide d'un tube effilé gradué, 7 à 8 cm^3 de cette solution pour chaque lavage. On les verse dans le verre *en ayant soin de rincer très soigneusement les parois*. On agite pour mettre le précipité en suspension. On laisse déposer et on décante sur le filtre en l'emplissant jusqu'au bord.

Cinq lavages sont nécessaires et suffisants pour éliminer tout le molybdate et le sulfate en excès.

Dissolution du précipité et précipitation du phosphomolybdate de Baryum.

Le verre contenant le précipité est placé sous l'entonnoir dans lequel on fait la filtration de telle sorte que l'extrémité du tube pénètre dans l'intérieur du vase. Celui-ci est alors recouvert d'un verre de montre échancré

On emplit le filtre d'une solution ammoniacale *fraîchement distillée* sur chaux et renfermant environ 10 % NH^3 (1) et on recouvre l'entonnoir avec un verre de montre.

Ces précautions ont pour but d'éviter la carbonatation.

On lave quatre fois le filtre à l'eau distillée. On vérifie que tout le précipité jaune est parfaitement dissous, sur le filtre comme dans le verre.

Le volume total est de 15 à 20 cm^3 environ.

(1) En raison de la précipitation ultérieure par un sel de Ba, il est important que cette solution ammoniacale ne soit pas carbonatée.

Essai (recherche CO^3) :

5 cm^3 de cette solution.

10 — d'eau.

5 — de solution de Cl^2Ba à 10 p. 100.

Il ne doit pas se produire de trouble en 20 minutes (CO^3Ba).

Précipitation du phosphomolybdate de Baryum.

On prend :

Solution de Cl^2Ba à 10 p. 100		
Pour moins de 2 mgr. de phosphore.....	2	cm^3
Pour plus de 2 mgr. —	5	—

On verse cette solution dans le liquide ammoniacal. Malgré les apparences, la précipitation n'est pas instantanée. Elle exige au minimum 15 minutes à condition d'agiter un instant de 5 en 5 minutes en frottant les parois du verre (1).

Au bout de ce temps, on filtre sur un petit filtre sans cendres de 6 cm. environ *en mettant à chaque fois en suspension le précipité*, et en évitant toujours autant que possible le contact prolongé avec l'air (CO^2).

On lave rapidement le verre et le filtre, à l'eau distillée bouillie, à 3 reprises.

A ce moment, la carbonatation n'est plus à craindre. On détache donc soigneusement le précipité adhérent au verre avec un agitateur muni d'un embout de caoutchouc.

Séchage et calcination du précipité.

On sèche le filtre et le précipité barytique, avec précaution, dans un creuset de platine taré et l'on calcine. On met dans un exsiccateur et on pèse après refroidissement.

Le précipité n'est pas hygroscopique et les pesées sont très précises.

Il n'est pas indispensable de nettoyer le creuset à chaque fois : on peut faire une série de calcinations dans le même creuset, le précipité étant d'une parfaite fixité à température élevée.

(1) Pour de très petites quantités de phosphore (0 mgr., 2), on s'aperçoit, en effet, que le précipité ne se forme pas instantanément.

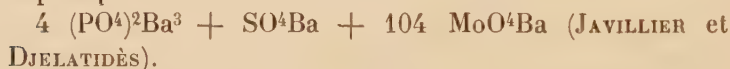
Constitution du précipité.

Le précipité de phosphomolybdate d'ammonium obtenu dans les conditions expérimentales précitées, est un mélange de phosphomolybdate $\text{PO}_4(\text{MoO}_3)^{12}(\text{NH}_4)^3$ et de sulfomolybdate $\text{SO}_4(\text{MoO}_3)^8(\text{NH}_4)^2$ dans la proportion de 8 molécules du premier pour une du second (POSTERNAK).

En faisant la double décomposition avec le chlorure de baryum on obtient un précipité barytique que M. POSTERNAK formule :



c'est-à-dire renfermant beaucoup plus de baryum que s'il s'agissait du sel barytique correspondant à l'acide phosphomolybdique $\text{PO}_4(\text{MoO}_3)^{12}\text{H}^3$ et à l'acide sulfomolybdique $\text{SO}_4(\text{MoO}_3)^8\text{H}^2$. C'est pourquoi on a pu formuler le précipité :



Peu importe, au reste, ce détail : ce qui est essentiel, c'est que l'on obtient un précipité dont la grandeur moléculaire est *considérable*, comparée au poids atomique du phosphore.

Etablissement du coefficient pour le calcul du phosphore.

M. POSTERNAK a fait un très grand nombre d'essais à partir de poids connus de phosphore s'échelonnant entre 0 mgr.,05 et 5 mgr.

Il constate qu'à partir de 0 mgr.,3 jusqu'à 5 mgr. les résultats concordent d'une façon remarquable, pour donner au rapport $\frac{\text{Phosphore}}{\text{Phosphomol. de Ba}}$ la valeur 0,00739. Ce coefficient est adopté. Il suffit de multiplier le poids du

phosphomolybdate de baryum par 0,00739 pour connaître la quantité de phosphore contenue dans le précipité.

Il en résulte que 1 mgr. de phosphore donne 135 mgr.,3 de phosphomolybdate de baryum (1).

Ce poids peut être évalué avec une grande précision sur une balance sensible au 1/10 de mgr.

En pratique, l'approximation est en effet très satisfaisante, ainsi que le prouvent les quelques essais suivants. La solution étalon employée contenait 1 mgr. de phosphore par centimètre cube.

Essais n°	Prise d'essai évaluée en Phosphore en mg.	Poids de précipité en mg.	P trouvé en mg.	Erreur p. 100
1	0,5	0,0680	0,502	+ 0,4
2	1	0,1355	1,001	+ 0,1
3	1	0,1355	1,001	+ 0,1
4	3	0,4080	3,013	+ 0,4

Pendant très longtemps, j'ai pratiqué chaque dosage en double, puis j'y ai renoncé devant la concordance toujours parfaite des deux résultats obtenus.

La carbonatation de l'ammoniaque pendant la reprise par ce réactif n'a jamais, au cours de mes essais, introduit de cause d'erreur appréciable. En opérant avec soin, cette carbonatation est pratiquement négligeable. La rigueur des chiffres précités en est la preuve.

Les seuls inconvénients que l'on puisse reconnaître à la méthode sont sa longueur et le nombre de manipulations

(1) Soit presque exactement le double du poids de phosphomolybdate d'ammonium correspondant : 1 mgr. de P donne 68 mgr. environ de phosphomolybdate d'ammonium (coefficient de PREGL).

qu'elle exige, en particulier deux filtrations. Or les précipités obtenus sont fort ténus, et il arrive parfois qu'une faible proportion traverse le filtre. Les manipulations s'en trouvent alors quelque peu compliquées.

Avec un peu d'habitude on peut toutefois gagner du temps en menant de front 6 dosages (nombre optimum).

En résumé, la méthode de M. POSTERNAK m'a semblé être la plus précise de toutes les méthodes pondérales pour le dosage de faibles quantités de phosphore. Elle est également la plus fine, car elle permet d'évaluer des quantités de phosphore qui échappaient auparavant à l'analyse gravimétrique.

Elle n'exige pas de matériel spécial. Mais elle est un peu compliquée et les dosages sont longs.

2° Dosage du phosphore par pesée de phosphomolybdate de strychnine.

(Méthode de MM. Embden-Javillier).

Le principe de cette méthode de dosage a été indiqué par **POUGET** et **CHOUGHAK** et par **DENIGÈS**. Ces auteurs précipitent le phosphore à l'état de phosphomolybdate alcaloïdique et apprécient la quantité de celui-ci par diaphanométrie.

Dès 1919, **M. JAVILLIER** chercha à transformer la méthode de **DENIGÈS** en méthode pondérale ; il n'avait pas publié ses observations, faites au début avec la collaboration de **M. DE SAINT-RAT**, quand **M. EMBDEN** décrivit en 1921 une méthode de dosage pondéral de l'acide phosphorique à l'état de phosphomolybdate de strychnine. Les auteurs avaient du reste appliqué des techniques presque identiques.

TECHNIQUE DE LA MÉTHODE.— Le liquide sulfurique provenant de la destruction sulfonitrique est légèrement dilué puis neutralisé exactement en présence de phénol-phtaléine avec une solution de soude pure à 20 0/0. On étend avec de l'eau distillée en telle proportion que 50 cm³ de liquide contiennent environ 1 mgr. de phosphore.

On prélève alors 50 cm³ de ce liquide neutre que l'on introduit dans un verre de Bohême. On ajoute d'un seul coup 20 cm³ de réactif molybdo-strychnique (1), et l'on porte à la glacière pendant 40 minutes en agitant de 10 en 10 minutes.

(1) La préparation de ce réactif est décrite à la page suivante: note 1.

Il se dépose un précipité blanc jaunâtre, amorphe, formé de flocons épais, très facile à recueillir sur filtre.

On pratique la filtration, en la favorisant par une légère aspiration, sur un petit creuset de Gooch spécialement préparé (2) et préalablement taré (3).

Le liquide passe limpide si l'aspiration n'est pas trop forte. On lave 2 fois le précipité avec 2 cm³ d'acide nitrique à 1/10 glacé, puis 4 fois avec 2 cm³ d'eau distillée glacée.

(1) *Réactif molybdo-strychnique* :

A) Solution de molybdate de soude :

16 gr.,66 de MoO₃ pur.

10 gr. de NaOH pure.

Eau, q. s. p. 100 cm³.

B) Solution de nitrate de strychnine :

Strychnine, base... 1 gr.

NO₃H pur 0 cm³,2.

H₂O, q. s. p. 100 cm³.

Au moment du besoin, mélanger :

Acide nitrique pur (d = 1,32) 7 vol.

Solution A 6 —

en refroidissant sous un courant d'eau froide ; puis :

Solution B 7 vol.

S'il se fait un louche (présence de phosphore dans l'un des réactifs), il suffit de filtrer au bout d'un instant.

20 cm³ de ce réactif peuvent précipiter 2 mgr. de phosphore ; mais il est préférable de l'employer en excès, soit 20 cm³ pour 1 mgr. de phosphore.

De même, la dose massive de molybdate que renferme le réactif, est très supérieure à la quantité théorique nécessaire, mais elle est indispensable pour obtenir de bons résultats.

(2) *Creuset de Gooch* ; on le garnit ainsi : une petite rondelle de papier filtre sans cendres est appliquée au fond du creuset, puis on remplit le creuset à plusieurs reprises avec une suspension de papier filtre broyé dans l'eau distillée. On laisse reposer quelques instants puis on relie à la trompe et l'on fait filtrer sous un petit vide. Il se fait un dépôt de 2 à 3 mm. d'épaisseur, qui constitue un excellent filtre. On sèche à 105°. L'amiante ne convient pas.

(3) Nous avons aussi beaucoup employé au laboratoire de petits creusets d'alundum, mais leur imprégnation par la liqueur mère et les difficultés de les bien laver nous les a fait abandonner.

On porte le creuset à l'étuve à $+ 105^{\circ}$ jusqu'à poids constant et l'on pèse avec les précautions habituelles.

Le poids du phosphore contenu dans le précipité est obtenu en multipliant le poids du précipité sec par 0,0112.

D'après M. JAVILLIER, le précipité, obtenu dans un milieu qui est assez fortement nitrique, semblerait formé d'un mélange de phosphomolybdate bi-dinitrostrychnique et de phosphomolybdate tri-dinitrostrychnique :

$\text{PO}^4(\text{MoO}_3)^{12}[\text{C}^{21}\text{H}^{20}(\text{NO}_2)_2\text{O}_2]^2$ contenant 1,14 % de phosph.

$\text{PO}^4(\text{MoO}_3)^{12}\text{H}^3[\text{C}^{21}\text{H}^{20}(\text{NO}_2)_2\text{O}_2]^3$ — 1,03 % —

dans une proportion qui n'a pas été strictement définie.

Pour une proportion d'une molécule du premier et trois du second, le précipité contiendrait 1,057 de phosphore et le coefficient de transformation serait 0,01057.

D'après ce coefficient, 1 mgr. de phosphore devrait donner 94 mgr.,6 de précipité.

En réalité, on n'obtient expérimentalement, en suivant la technique indiquée, que 89 mgr.,2 de précipité à partir de 1 mgr. de phosphore : ce qui correspond à un coefficient un peu moins bon : 0,0112.

Ceci s'expliquerait par la légère solubilité du précipité dans les eaux de précipitation et de lavage, et c'est pourquoi il est recommandé d'opérer la précipitation et le lavage à une température voisine de 0° .

C'est pour ces conditions opératoires que vaut le coefficient indiqué : 0,0112.

La légère solubilité du précipité, qui entraîne l'emploi d'un coefficient corrigé, la nécessité d'opérer sur des prises d'essais renfermant, autant que possible, des quantités de phosphore de même ordre de grandeur (1 mgr.) sont des inconvénients de la méthode. Ceux-ci sont balancés par l'avantage d'un nombre de manipulations réduit au minimum et la possibilité de mener de front sans difficulté jusqu'à douze dosages. Il suffit d'être muni, comme nous l'étions,

d'une petite rampe à vide portant un nombre de robinets suffisant. Nous avons couramment appliqué la méthode dans ces conditions. Les résultats, par comparaison avec ceux que donne la méthode de M. POSTERNAK, se montrent satisfaisants (1).

(1) Nous n'avons pas cherché à affiner davantage la méthode au phosphomolybdate de strychnine. Tout récemment (*Soc. de Chimie biologique*, juin 1928), et *Bulletin*, t. 10, p. 1061. octobre 1928), M. J. ROCHE a indiqué une technique qui lui permet, en passant par le phosphomolybdate de strychnine, de doser des quantités de phosphore de l'ordre du dixième de milligramme.

3^e Dosage du phosphore par la méthode de M. Copaux.

Le principe de cette méthode est nouveau et original : il consiste à mesurer avec précision le volume occupé par un complexe liquide formé à partir de l'acide phosphorique. C'est une méthode volumétrique, mais dans un sens différent du sens traditionnel.

L'application de cette méthode m'ayant donné toute satisfaction pour le dosage de quantités moyennes de phosphore, j'ai cherché à établir sa valeur pour le dosage de quantités de phosphore égales ou inférieures au milligramme.

Je vais exposer l'ensemble des expériences, qui m'ont conduit à adopter définitivement la méthode de M. COPAUX pour la suite de mes dosages.

Dosage de faibles quantités de Phosphore par la méthode de M. Copaux.

Je rappelle d'abord, d'une façon plus précise le principe :

Une solution d'un phosphate, additionnée d'un acide minéral (sulfurique, chlorhydrique, nitrique, etc.), et agitée en présence d'éther avec un molybdate alcalin, donne lieu à la formation d'acide phospho-molybdique qui s'unit à l'éther et à l'eau pour former un complexe liquide de couleur jaune, de densité élevée, non miscible à son eau mère et qu'on peut séparer par centrifugation.

Cette réaction, commune aux séries en $[24 \text{ MoO}_3]$ et en $[24 \text{ TuO}_3]$, est particulièrement nette avec l'acide phospho-molybdique. Si le milieu contient des proportions convena-

bles d'acide minéral, d'éther et d'eau, la totalité de l'acide phosphomolybdique passe à l'état de complexe liquide jaune. Dans ce cas, après la centrifugation, on observe trois phases superposées de moins en moins denses : le complexe liquide jaune, une couche aqueuse, une couche d'éther en excès. Si on détruit l'équilibre, en ajoutant, par exemple, un excès d'eau, les trois phases se confondent, et l'on n'a plus qu'une solution homogène d'acide phosphomolybdique et d'éther dans l'eau acidulée.

Pour établir, sur ce principe, une méthode de dosage du phosphore, M. COPAUX a entrepris l'étude de la constitution du complexe liquide phosphoré.

L'analyse qualitative de ce liquide lui a montré qu'il entrerait dans sa composition, de façon constante : du phosphore, de l'eau, de l'éther et de l'oxyde de molybdène, MoO_3 .

L'analyse quantitative présentait quelque difficulté pour le prélèvement de fractions bien mesurées de liquide.

Elle donna, dans différentes expériences, les résultats suivants :

	Moyenne			
P^2O^5	1,66	1,84	1,68	1,73
$\text{P}^2\text{O}^5 + \text{MoO}_3$...	43,81	44,18	43,56	43,85
$\text{C}^4\text{H}^{10}\text{O}$	32,27	33,46	33,33	33,02
H^2O	»	20,40	22,90	21,65

L'examen des chiffres montre que le rapport $\frac{\text{P}^2\text{O}^5}{\text{MoO}_3}$ est toujours parfaitement fixe et égal à $\frac{1}{21}$. Mais les autres rapports ne sont pas suffisamment constants pour qu'on puisse affirmer qu'il s'agit d'un composé défini.

M. COPAUX en donne néanmoins, d'après les résultats analytiques précédents, une formule approximative :



« Il n'est pas impossible, dit-il, que ce corps tout-à-fait isotrope en lumière polarisée, soit un cristal surfondu où

les molécules d'eau et d'éther seraient associées à une molécule d'acide phosphomolybdique, car on connaît des phospho et des silico-tungstates qui cristallisent à la fois avec de l'eau et des molécules étrangères, nitrates alcalins, acétone, etc. . . ».

Quoiqu'il en soit, la composition de ce liquide est assez constante et sa teneur en P^2O^5 assez petite par rapport à son volume pour que la mesure de ce volume dans une ampoule appropriée puisse constituer une méthode de dosage pratique du phosphore. Le poids spécifique du liquide étant de 1,23 à 20° et sa teneur moyenne en P^2O^5 , 1,73 pour 100, on calcule aisément que 1 mgr. de P^2O^5 en cet état, soit 0 mgr.,436 de phosphore doit occuper environ $1/20^e$ de cm^3 , ce qui est d'accord avec l'expérience.

Toutefois, étant donné ce que nous avons dit plus haut (au sujet des variations possibles de la teneur du complexe en eau et en éther), il est indispensable, pour donner au procédé de dosage toute l'exactitude voulue, de ne pas s'en tenir au calcul. On devra opérer par comparaison, en déterminant le volume du complexe phosphoré, obtenu à partir d'un volume connu de solution type de phosphate pur.

M. COPAUX a appliqué sa méthode avec de très bons résultats au dosage du phosphore dans des phosphates naturels, c'est-à-dire dans des milieux riches en phosphore. Au moment où nous entreprenions notre travail, en 1923, on avait déjà appliqué la même méthode au dosage des phosphates urinaires [61] et du phosphore total du lait [29 ; mais on ne l'avait pas appliquée à l'analyse des tissus et aucun travail n'avait été fait pour rechercher si l'exactitude du procédé reste bonne lorsque les quantités de phosphore s'affaiblissent dans le milieu.

D'autre part, les petites quantités de phosphore que nous voulions doser, se trouvaient en présence d'un mélange salin complexe, provenant de la destruction sulfo-nitrique

de tissus variés, et enfin, cette méthode même de destruction nous mettait en présence d'un excès d'acide sulfurique qui n'était pas prévu dans la technique de l'auteur.

Nous avons dû trancher, avant toute tentative d'application, les trois questions suivantes :

1° Comment se passe la réaction pour de petites quantités de phosphore ? Reste-t-elle quantitative ? Et quelle est sa limite de sensibilité ?

2° Quelle est l'influence sur cette réaction d'un milieu minéral complexe ?

3° L'excès d'acide (d'autant plus grand que la quantité relative de phosphore est plus petite) a-t-il une influence sur la formation du complexe ?

Dès maintenant, nous pouvons dire que le résultat de notre travail s'est montré favorable à la méthode. Nous exposerons plus loin la technique à laquelle nous nous sommes arrêtée, qui diffère peu, en somme, de la technique décrite par M. COPAUX lui-même.

APPAREIL.— Nous avons employé une ampoule semblable à l'ampoule décrite par M. COPAUX, mais d'une capacité beaucoup plus faible.

La douille est graduée en *quarantièmes de centimètre cube* ; elle porte 15 divisions. Sa capacité totale est de $15/40^{\circ}$ de cm^3 , soit $1/3$ de centimètre cube environ.

Nous verrons plus loin que cette graduation peut être avec avantage remplacée par une graduation différente.

La capacité du réservoir de l'ampoule (R) est d'environ 45 cm^3 . L'orifice doit être assez étroit (8 mm. de diamètre intérieur environ) pour pouvoir être aisément obturé avec le ponce.

RÉACTIFS.— I. Réactif molybdique (1) :

Molybdate de sodium	140 gr.
Eau distillée, q. s. p.	1.000 cm ³

II. Solution sulfurique :

Acide sulfurique concentré	200 gr.
Eau distillée, q. s. p.	1.000 cm ³

III. Ether :

Exempt d'alcool.

IV. Eau distillée pure.

Ces réactifs doivent être exempts de phosphore. On s'en assurera par l'essai suivant :

Mélanger :

Eau distillée	10 cm ³
Solution sulfurique	10 —
Ether	8 —

agiter, et ajouter :

Réactif molybdique	10 cm ³
--------------------------	--------------------

(1) La formule que nous indiquons correspond à la formule indiquée par M. COPAUX lui-même. Mais celui-ci prépare extemporanément le molybdate de sodium en faisant réagir de l'anhydride molybdique (100 gr.) sur du carbonate de soude (32 gr.), puis complète à 1.000 cm³. Cette technique est difficile, car on trouve dans le commerce l'acide molybdique qu'il faut transformer en anhydride. Cette transformation est longue et délicate. Il faut chauffer l'acide molybdique dans une capsule en agitant constamment avec une baguette de verre. Toute surchauffe donne lieu, en effet, à la formation d'un oxyde salin moins oxygéné que MoO₃. On obtient alors une solution teintée en vert qu'on doit réoxyder en la chauffant jusqu'à décoloration en présence d'une quantité suffisante d'eau bromée.

Enfin, le réactif ainsi préparé n'est pas toujours stable. Nous avons eu parfois, au bout d'un certain temps, un dépôt blanc assez abondant.

La solution de molybdate de soude que nous préparons n'a pas cet inconvénient. Sa teneur en MoO₃ est la même que celle de la solution de COPAUX. Nos essais nous ont montré qu'elle se comportait au cours du dosage de façon absolument identique.

agiter de nouveau et centrifuger. La liqueur aqueuse et l'éther surnageant devront être limpides et incolores.

Solution étalon de phosphore.

Nous avons employé une solution préparée avec du phosphate mono-ammoniacal, dont la teneur en phosphore avait été préalablement vérifiée avec la plus grande précision.

Un centimètre cube de notre solution contenait un milligramme de phosphore.

Technique du dosage.

On introduit dans l'ampoule :

- 10 cm³ de la solution à titrer ;
- 10 — de liqueur sulfurique ;
- 8 — d'éther.

On agite, puis on introduit encore :

10 cm³ de solution molybdate de soude, par fractions successives de 3 cm³ environ, *en agitant énergiquement après chaque affusion.*

L'agitation énergique après chaque affusion est indispensable pour que le complexe phosphorique se rassemble bien.

De même, l'ordre dans lequel les réactifs sont versés dans l'ampoule doit être scrupuleusement respecté.

On centrifuge (1).

Le complexe phosphorique jaune se rassemble à la partie inférieure. On vérifie que la liqueur surnageante (couche aqueuse et couche éthérée) est parfaitement limpide et

(1) La maison Berlemont fabrique un petit appareil qu'on peut adapter sur n'importe quelle centrifugeuse à main et qui permet la centrifugation des ampoules.

qu'aucun globule de liquide jaune n'est resté adhérent aux parois de l'ampoule, notamment au point de jonction du tube étroit avec la partie renflée. S'il est nécessaire, on fait une seconde centrifugation.

Comme nous l'avons indiqué plus haut, quand l'agitation des liquides pendant l'opération a été énergique, le rassemblement du complexe se fait très facilement par une seule centrifugation d'une minute environ.

Après la centrifugation, on fait la lecture du volume occupé par le complexe. Celui-ci s'altère au bout d'un certain temps.

Calcul du résultat en phosphore.

M. COPAUX prépare, dans les mêmes conditions, un témoin, à partir d'une solution de phosphate mono-ammoniacal. Dans ce témoin, il lit le volume occupé par le complexe et calcule à partir de ce volume la valeur d'une division de l'ampoule en mgr. de P_2O_5 .

Il lit alors le volume occupé par le complexe dans l'ampoule où il a pratiqué le dosage et en déduit la teneur en P_2O_5 de la prise d'essai.

Lorsqu'on opère, comme nous l'avons fait, avec de très petites quantités de phosphore, cette façon de procéder n'est plus acceptable, car de minimes erreurs absolues deviennent de grosses erreurs relatives.

Nous avons vérifié en premier lieu que, quelque soin qu'on ait apporté à leur fabrication, les ampoules ne sont jamais identiques les unes aux autres et que leur graduation n'est pas rigoureuse. Si donc l'on fait un témoin, on devra le faire dans l'ampoule même où sera fait le dosage.

Cela posé, est-il correct de calculer la valeur d'une division de l'ampoule en mgr. de P_2O_5 d'après le volume du complexe obtenu dans le témoin ?

Une première cause d'erreur peut évidemment provenir

de la mauvaise graduation de l'ampoule. Mais, même si ce n'est pas le cas, un point important doit être établi : y a-t-il bien proportionnalité entre le volume du complexe et le poids du phosphore qui s'y trouve ?

Le volume du complexe est-il rigoureusement proportionnel à la quantité de phosphore qu'il contient ? Autrement dit, lorsque la quantité de phosphore contenue dans la prise d'essai varie de 1 à 2, le volume du complexe passe-t-il exactement de 1 à 2 ?

Nous avons pris des quantités de phosphore égales à.. 0 mgr.,25
 — .. 0 mgr.,50
 — .. 1 mgr.
 — .. 2 mgr.

et nous avons soigneusement repéré, dans chaque cas, le niveau atteint par le complexe liquide dans la douille de l'ampoule.

Puis nous avons introduit dans l'ampoule des volumes de mercure respectivement égaux aux volumes occupés par le complexe dans les 4 cas et pesé ce mercure. Voici les résultats :

Quantité de P. en mgr.	Volume occupé par le complexe	Poids du même volume de Hg.	Augmentation relative
0,25	V ₁	0,300	1
0,50	V ₂	0,6945	2,31
1	V ₃	1,470	4,90
2	V ₄	2,9955	9,98

Cette expérience, plusieurs fois répétée avec des résultats absolument identiques, montre que, lorsque les quantités de phosphore vont croissant comme : 1, 2, 4, 8, les volumes du complexe vont croissant comme : 1, 2,31, 4,90, 9,98.

Il n'y a donc pas proportionnalité entre le volume occupé par le complexe et la quantité de phosphore qu'il contient.

D'autre part, en examinant les chiffres de plus près, on constate que les écarts sont d'autant plus importants que les quantités de phosphore sont plus faibles.

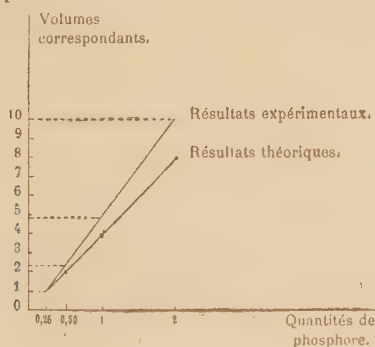
C'est ainsi que, lorsque le phosphore passe de 0 mgr.,25 à 0 mgr.,50 le volume passe de 1 à 2,31 ; ce dernier chiffre dépasse de 15 p. 100 la valeur double du volume initial.

Lorsque le phosphore passe de 0,50 à 1. le volume du complexe passe de 2,31 à 4,90. Ce volume de 4,90 dépasse de 6 p. 100 environ la valeur attendue (qui est $2,31 \times 2 = 4,62$).

Lorsque enfin le phosphore passe de 1 mgr. à 2 mgr. le volume du complexe passe de 4,90 à 9,98. On voit que ce dernier chiffre dépasse de 1,8 p. 100 seulement le double du volume initial ($4,90 \times 2 = 9,80$).

C'est-à-dire que pour des teneurs en phosphore comprises entre 1 et 2 mgr., on peut sensiblement admettre que le volume du complexe double quand le poids du phosphore double (1).

(1) Nous avons traduit les résultats obtenus dans un graphique. Ceci nous a permis de constater que les chiffres obtenus dans nos expériences se placent sur une même ligne droite. Le phénomène étudié présente donc une grande régularité, et la variation de volume du complexe, par rapport au poids de phosphore, obéit en définitive à une loi relativement simple.



En inversant ce raisonnement, on peut dire :

Entre 2 mgr. et 1 mgr. il y a sensiblement proportionnalité entre le poids de phosphore et le volume du complexe. Au-dessous de 1 mgr., le volume du complexe devient plus petit qu'il ne devrait être.

Nous nous sommes demandé si ce fait ne tenait pas à ce que, dans un milieu très peu riche en P (au-dessous de 1 mgr.) une partie seulement du phosphore passait à l'état de complexe liquide. Cette hypothèse ne nous a pas paru acceptable ; car, même pour ces petites quantités, nous avons toujours constaté que le liquide surnageant était parfaitement incolore. Or, des traces de phosphore (0 mgr., 01) suffisent pour colorer le milieu en jaune dans les conditions de l'opération.

Il faut donc admettre que la composition du précipité lui-même doit être modifiée. Il contient bien la totalité du phosphore, mais les proportions relatives des autres constituants se trouvent changées.

Quoi qu'il en soit, la valeur du procédé au point de vue du dosage du phosphore — qui nous intéresse ici — n'est nullement diminuée. Ces expériences nous montrent seulement qu'il est impossible de déduire par un calcul simple, du volume occupé par le complexe, la quantité de phosphore correspondante. Pour les petites quantités de phosphore, il est indispensable de se rapporter à un témoin contenant une quantité de phosphore voisine de la quantité de phosphore à doser.

Toutefois, la pratique nous a montré, d'autre part, que, pour une quantité donnée de phosphore, le volume occupé par le complexe était *remarquablement fixe*. Il est parfaitement indépendant des conditions de précipitation (léger excès de l'un ou de l'autre des réactifs, durée et vitesse de la centrifugation). Il est suffisamment indépendant de la température pour que nous n'ayons pu observer

aucune variation sensible du volume entre 15° et 25° (1).

Il s'ensuit que le résultat donné par une expérience témoin est valable une fois pour toutes et qu'on peut en pratique éviter la préparation fréquente de témoins en graduant soi-même l'ampoule, non plus en volumes égaux, mais directement en quantités de phosphore : on adoptera, par exemple, l'échelle suivante :

0 mgr.,2 ; 0 mgr.,4 ; 0 mgr.,6 ; 0 mgr.,8 ; 1 mgr. ; 1 mgr.,20 ;
1 mgr.,40 ; 1 mgr.,60 ; 1 mgr.,80 ; 2 mgr.

Pour les doses intermédiaires, les lectures se font très aisément par interpolation. On calcule la quantité de phosphore par une règle de trois en prenant pour base la graduation la plus proche.

Limites de sensibilité et d'application quantitative.

Ayant établi les données précédentes, nous nous sommes appliquée à déterminer la limite de sensibilité de la méthode, et sa limite inférieure d'application quantitative.

Pour une prise d'essai de 10 cm³ contenant 0 mgr.,01 de phosphore, il n'y a pas de formation de complexe. La liqueur éthérée est légèrement jaune. Au point de vue qualitatif, donc, la présence de phosphore dans un liquide peut être révélée par la réaction jusqu'à la dilution de 1/1.000.000.

A partir de 0 mgr.,05 de phosphore, la liqueur devient nettement trouble, mais on ne peut pas arriver par centrifugation à rassembler le complexe.

Pour 0 mgr.,10 de phosphore, au contraire, le complexe se rassemble très bien et forme dans l'ampoule une colonne de 3 mm. de hauteur environ qui permet une lecture satisfaisante.

(1) Ce fait peut paraître surprenant. Il s'explique à notre avis de la façon suivante : l'élévation de température tend à augmenter le volume du complexe, mais en même temps, comme l'a montré M. DERIC [5], à lui faire perdre une faible partie de l'éther qui entre dans sa composition. La superposition des deux phénomènes de sens opposés aboutit, entre les limites que nous indiquons, à une variation insensible.

On peut donc considérer ce chiffre 0 mgr.,10 (correspondant à une dilution de 1/100.000) comme marquant la limite inférieure d'application quantitative de la méthode.

La méthode est donc très sensible: elle permet de doser le phosphore avec une exactitude très satisfaisante dès le voisinage du dixième de milligramme, et avec une précision excellente à partir de deux dixièmes de milligramme.

Au-dessous de un dixième de mgr., elle ne permet pas une évaluation quantitative, mais elle décele encore le phosphore aux environs de un centième de mgr. et pour une dilution de un millionième.

Influence d'un milieu minéral complexe sur la réaction

Au cours de notre travail, la réaction devait être normalement appliquée dans des milieux minéraux complexes, aussi avons-nous pris soin d'étudier l'influence que pouvaient avoir les sels sur la réaction.

Nous avons employé la solution saline suivante :

Cl^2Ca	0 gr.,5 pour 100	
SO^4Mg	1 gr.	—
SO^4K^2	2 gr.,5	—
ClNa	1 gr.	—
Alun de fer ammoniacal.....	0 gr.,5	—
SO^4Mn	0 gr.,5	—
SO^4Zn	0 gr.,5	—
SO^4Am^2	2 gr.,5	—
Total,	9 gr.	pour 100.

On faisait une prise d'essai de 1 mgr. de phosphore, à laquelle on ajoutait des quantités croissantes de la solution saline. (Voir les résultats dans le tableau suivant) :

Dans la dernière expérience, on avait ajouté 7 cm³ de la solution saline complexe à 9 ‰, soit 0 gr.,63 de substance saline. La prise d'essai étant amené à 10 cm³, le phosphore à doser se trouvait dans un milieu salin complexe à 6,3 ‰. C'est une concentration qui n'est jamais atteinte dans un milieu provenant de la minéralisation de quelques grammes de substance minérale ou végétale.

Poids du phosphore dans la prise d'essai en mgr.	Volume de solution saline ajouté en cm ³	Volume total en cm ³	Volume occupé par le complexe
1	0	10	4,4
1	1	10	4,4
1	2	10	4,35
1	3	10	4,3
1	4	10	4,3
1	5	10	4,3
1	6	10	4,3
1	7	10	4,3

Citrates alcalins.

M. COPAUX avait signalé l'action perturbatrice de ces sels, lorsqu'il avait voulu appliquer sa méthode au dosage du phosphore des engrais solubles dans les citrates. C'est un cas très particulier que nous n'avons pas à envisager ici.

Milieux très concentrés en sel.

Nous avons eu l'occasion de pratiquer le dosage du phosphore soluble dans une liqueur chargée de 15 ‰ de

chlorure de sodium qui avait servi à l'extraction de dérivés nucléiques.

Dans ce cas, le dosage fut nettement mauvais : le complexe se rassemblait mal et était surmonté d'une couche importante d'impuretés. Mais il s'agit, là encore, d'un cas très particulier.

Application de la méthode dans un milieu très chargé d'acide sulfurique.

Nous voulions appliquer la méthode dans des liqueurs provenant de la destruction sulfo-nitrique de substances organiques animales.

D'une façon générale, nous opérons la destruction avec 2 cm³ d'acide sulfurique concentré, qui restaient à la fin de l'opération. On diluait le plus souvent jusqu'au volume de 50 cm³, de sorte que 10 cm³ de ce liquide sur lesquels le dosage devait être pratiqué, contenaient environ 0 cm³,40 d'acide sulfurique.

D'autre part, selon la technique de M. COPAUX, on doit ajouter à la solution, au cours du dosage, 10 cm³ de solution sulfurique à 200 gr. $\frac{0}{100}$, soit environ 2 gr. d'acide sulfurique.

La liqueur initiale apportait donc un excès de 20 $\frac{0}{100}$ environ d'acide sulfurique.

Nous avons vérifié que cet excès n'avait aucun inconvénient. On fit une destruction de tissu rénal de porc : une portion fut neutralisée, une égale portion fut traitée directement. Les résultats obtenus furent identiques.

Il n'en est plus de même lorsque l'excès d'acide sulfurique devient important : ce qui se produit, par exemple, lorsque la teneur en phosphore de la substance détruite est très faible et qu'on est obligé de pratiquer le dosage sur la totalité du liquide de destruction. Dans ce cas, si l'on applique la technique habituelle, l'excès d'acide gêne la réaction et le complexe se rassemble très mal. Il suffit

alors pour avoir un excellent dosage de remplacer les 10 cm³ de liqueur sulfurique par 10 cm³ d'eau distillée.

Nous citerons enfin une dernière expérience, que, par précaution, nous avons voulu réaliser.

Nous avons dosé le phosphore contenu dans le produit de destruction d'un extrait pancréatique de porc. Puis nous avons ajouté à la solution de petites quantités de phosphore, sous forme de phosphate mono-ammoniacal : les résultats furent les suivants :

Poids de phosphore dans la prise d'essai (extrait pancréatique) en mgr.	Phosphore ajouté en mgr.	Poids théorique total en mgr.	Poids total trouvé en mgr.
1.177	0,5	1,677	1,679
1.177	0.25	1,427	1,428

La correspondance est donc absolument parfaite entre le chiffre théorique et le chiffre trouvé.

Cette expérience s'ajoute aux deux groupes de recherches précédents pour démontrer que, ni les produits salins résultant de la destruction, ni l'excès d'acide sulfurique apporté par l'opération, ne compromettent l'exactitude des dosages.

REMARQUE. — Lorsqu'on pratique la réaction de COPAUX dans un milieu de destruction de matière organique, on observe parfois à la surface du complexe liquide la présence d'impuretés qui rendent difficile la lecture du volume.

Ces impuretés sont dues à une destruction insuffisamment prolongée. En pratique, en effet, lorsqu'on opère sur de *petites quantités de matière organique* et qu'on a soin de mener la destruction suffisamment à fond, on n'observe

jamais la présence de ces impuretés. Nous reviendrons plus loin sur ce point.

**Comparaison de la méthode Copaux
appliquée à des micro-dosages
avec d'autres micro-méthodes du dosage du phosphore.**

Le tableau suivant groupe les résultats d'un certain nombre de dosages de phosphore exécutés dans des milieux complexes (destruction sulfo-nitrique de poudres végétales). Il permet de comparer les chiffres obtenus par la méthode de M. COPAUX avec les chiffres obtenus par la méthode de POSTERNAK et celle de EMBDEN-JAVILLIER.

Prise d'essai (destruction sulfo-nitrique)	Méthode de POSTERNAK — P en mgr.	Méthode de EMBDEN et JAVILLIER — P en mgr.	Méthode de COPAUX — P en mgr.	Ecart
0 gr.,50 feuilles de menthe I sèche..	1,077	1,055	1,058	— 2 0/0 et 0 0/0.
0 gr.,50 feuilles de menthe II sèche..	1,53	»	1,49	— 2,6 0/0.
0 gr.,50 poudre py- rèthre total sec..	0,701	»	0,69	— 1,4 0/0.
1 gr. poudre tige pyrèthre sèche..	0,951	»	0,891	— 6,3 0/0.
0 gr.,50 feuille di- gitale sèche.....	1,025	»	1,035	+ 1 0/0.
0 gr.,50 fruits di- gitale secs	2,359	2,534	2,361	0 0/0 et + 1,3 0/0.
Moyenne des écarts.....				— 1,88 0/0.

On voit que, d'une façon générale, la correspondance est très étroite. Dans un seul cas sur 6 expériences, l'écart s'est abaissé à $- 6 \text{ ‰}$, et, même en tenant compte de ce chiffre un peu élevé, l'écart moyen dans les six expériences n'atteint pas 2 ‰ .

Pour les petites quantités de phosphore considérées, cette correspondance est aussi satisfaisante que possible et l'on peut dire que la méthode COPAUX adaptée au dosage de petites quantités de phosphore ne le cède en rien par l'exactitude à une micro-méthode comme celle de M. POSTERNAK qui passe à juste titre pour l'une des meilleures.

D'autre part, la méthode COPAUX est d'une application infiniment plus rapide et plus commode que la méthode POSTERNAK ou que la plupart des méthodes précises de dosage du phosphore, et ces considérations sont d'un très grand intérêt dans la valeur pratique d'une méthode analytique.

CHAPITRE II.

La destruction des tissus en vue du dosage du Phosphore. Méthodes par voie sèche et Méthodes par voie humide. Choix de la méthode sulfonitrique.

Le dosage du phosphore ne pouvant être pratiqué que si cet élément se trouve à l'état d'acide phosphorique et en milieu exclusivement minéral, il est indispensable d'opérer la destruction préalable du tissu en milieu oxydant.

Cette opération, en principe extrêmement simple, est en réalité d'une application délicate.

Les méthodes de minéralisation de la matière organique peuvent se classer en deux catégories :

- Les méthodes par voie sèche ;
 - Les méthodes par voie humide.
-

Les méthodes par voie sèche.

Ces procédés ont été très fréquemment employés dans des recherches antérieures comportant des dosages de phosphore. Il est donc nécessaire de nous y arrêter.

L'incinération par voie sèche de fragments de tissus et d'organes de la série animale présente en effet des difficultés bien connues. Difficultés particulièrement grandes, lorsqu'il s'agit de brûler des tissus riches en graisses et en lipoides, ou encore des extraits étherés, ainsi que le comporte le dosage du phosphore lipidique.

La méthode la plus couramment employée autrefois était la simple calcination au moufle en présence de l'air.

L'acide phosphorique était dosé dans les cendres obtenues. Or une telle calcination entraîne une perte de phosphore importante.

Il peut exister en effet dans les substances à détruire des combinaisons organiques phosphorées volatiles, qui s'échappent dès les premiers instants du chauffage, ou de telles combinaisons peuvent prendre naissance au cours du chauffage.

Mais la cause la plus importante de perte de phosphore est la réduction de l'acide phosphorique lui-même par le carbone.

Si, enfin, le milieu est riche en silice — mais ceci ne s'applique guère aux tissus animaux — celle-ci peut à haute température déplacer l'acide phosphorique.

On a amélioré cette méthode en calcinant la substance après l'avoir additionnée d'un oxydant et d'un alcali non volatil. L'oxydant facilite et accélère la combustion, l'alcali fixe l'acide phosphorique formé.

Cette méthode, avec de nombreuses variantes résultant

de la nature de l'oxydant ou de l'alcali utilisés, fut pendant très longtemps exclusivement employée pour la destruction des tissus en vue du dosage du phosphore et d'autres éléments chimiques.

Bien que l'excès d'alcali contribue à diminuer grandement les risques de perte et que la présence d'un agent d'oxydation dans la masse même à brûler évite certains des inconvénients signalés précédemment, ce procédé de destruction est encore imparfait. L'expérience montre que les pertes en phosphore sont encore très sensibles. Ce point a été établi par M. BERTHELOT qui conclut ainsi :

« Pour faire des dosages exacts par cette méthode, il faudrait que la combustion eût lieu du commencement jusqu'à la fin en présence d'un excès d'oxygène, qu'elle fut totale pendant toute la durée de l'opération ; enfin qu'elle eût lieu à la fois à une température suffisamment haute et avec le concours d'une proportion d'alcali capable de changer en phosphates la totalité du phosphore. »

La seule manière d'appliquer avec de bons résultats la destruction par calcination consiste à opérer dans un tube à combustion traversé par un courant d'oxygène, en présence de carbonate de sodium. Ce procédé de combustion, indiqué par BERTHELOT, donne d'excellents résultats (1). Il faut seulement avoir soin ne pas chauffer trop fortement afin d'éviter la fusion du carbonate de sodium et l'attaque du verre. (2). C'est ce procédé que PREGL a adopté et adapté à sa microméthode de dosage du phosphore.

Cette méthode doit être considérée comme la seule méthode parfaite de destruction des tissus par voie sèche.

Elle nécessite un matériel spécial qui peut rendre difficile son application en série.

(1). — A. Gautier emploie la chaux et la magnésie. Kohn Abrest préconise l'emploi de nitrate de magnésium.

(2). — Certains verres cèdent du phosphore,

J'ai eu l'occasion de pratiquer, en collaboration avec mon mari, un certain nombre de destructions par ce procédé. Je décrirai donc ici la méthode de PREGL, en indiquant comment nous l'avions adaptée au matériel dont nous disposions [18 *bis*].

Méthode de destruction de Pregl [59].

Le principe est le suivant : On mélange la substance, placée dans une nacelle de platine, avec du carbonate de sodium et du nitrate de potassium, et on la brûle dans un courant d'oxygène.

Le tube à combustion est un petit tube en verre d'Iéna de 150 millimètres de long environ. La partie extrême, courbée à angle droit vers le haut, se termine par une pointe capillaire étirée. La substance pesée (2 à 5 milligrammes dans les dosages de PREGL) est introduite dans une petite nacelle de platine. On y ajoute un excès de carbonate de sodium nitraté qu'on mélange avec la substance à l'aide d'un petit fil de platine terminé par une boucle ; on laisse ce fil de platine dans la nacelle et on recouvre le tout de mélange oxydant.

La nacelle est placée dans le tube à combustion. On fait passer lentement de l'oxygène. On chauffe prudemment en déplaçant le brûleur d'avant en arrière, c'est-à-dire en sens inverse de la marche du courant d'oxygène.

Lorsque la réaction paraît terminée, on chauffe la nacelle quelques minutes encore en ouvrant l'oxygène en grand, puis on laisse refroidir dans le courant d'oxygène.

La nacelle est ensuite placée dans un tube à essai et chauffée avec de l'acide nitrique étendu ; la solution est filtrée dans un tube plus large préalablement lavé à l'acide sulfochromique.

Des parcelles de matière ont pu jaillir de la nacelle ; aussi le tube à combustion doit-il être lavé à l'acide nitrique

étendu et chaud. C'est pour cette raison que la partie rétrécie de ce tube a été courbée à angle droit de façon à permettre la dissolution en maintenant le tube incliné. On laisse alors le liquide s'écouler goutte à goutte par la partie capillaire dans la solution provenant de l'épuisement du produit de destruction. C'est dans cette liqueur que l'on procèdera au dosage.

Dans l'application que nous avons faite de cette méthode, nous avons employé, comme PREGL, un tube en verre d'Iéna. Nous avons d'abord tenté de remplacer la nacelle de platine par une nacelle de quartz, puis nous avons supprimé celle-ci, et, dans la suite, nous mélangions très intimement la substance avec du carbonate de sodium très pur et anhydre, obtenu par calcination du bicarbonate de sodium pur. Ce mélange était introduit dans le tube à combustion entre deux colonnes de carbonate de sodium. La suite des opérations ne différait pas de la technique précédemment décrite.

On pouvait, dans le produit de la destruction, doser le chlore, le soufre et le phosphore.

Personnellement, nous avons préféré, dans la suite, les méthodes de destruction par voie humide, qui évitent l'introduction d'une quantité assez considérable de substances salines dans le milieu à analyser, et qui sont d'une application plus commode.

Méthodes de destruction par voie humide.

On fait agir sur la substance organique à minéraliser, un mélange d'acide sulfurique et d'acide nitrique.

Le procédé, déjà ancien, fut mentionné pour la première fois par MILLON en 1864 et utilisé en 1889 par M. le Professeur LAPICQUE pour le dosage du fer dans le sang. NEUMANN en 1897 en reprit l'étude.

Il fut, pendant longtemps, beaucoup moins employé que la voie sèche, plus rapide et ne donnant pas lieu à des vapeurs nitreuses désagréables. De nos jours, au contraire, la méthode par voie humide tend, dans un assez grand nombre de cas, à être préférée, l'expérience ayant montré que la méthode par voie sèche ne peut être appliquée au dosage de certains éléments qu'avec des précautions tout à fait spéciales.

C'est le cas du phosphore.

L'emploi de la méthode sulfonitrique, contrairement à ce qu'on pourrait croire, ne met pas entièrement à l'abri des pertes de phosphore. BAUMANN a signalé le premier qu'en présence de l'acide sulfurique, au dessus de 250 degrés, l'on peut perdre par volatilisation une certaine proportion d'acide phosphorique.

D'autres auteurs, ont repris la question à ce point de vue, et montré que ces pertes pouvaient être évitées en menant l'opération avec douceur (NEUMANN, GREGERSEN).

MM. FONTÈS et THIVOLLE ont cherché à supprimer l'acide sulfurique dans le milieu d'attaque, et ont mis au point une méthode mixte, commençant la destruction par la voie humide et l'achevant par la voie sèche.

Nous avons cherché à appliquer cette méthode séduisante à nos dosages.

Voici les résultats de nos essais :

Description de la méthode Fontès et Thivolle.

La substance à détruire (10 grammes environ) est introduite dans un ballon de Kjeldahl en verre Pyrex, additionnée de son poids environ d'acide azotique concentré pur et de 1 ou 2 cm³ d'eau oxygénée pure à 10 volumes. Cette addition d'eau oxygénée a pour but d'oxyder les vapeurs nitreuses et d'empêcher la formation de mousse.

On porte rapidement l'acide nitrique à l'ébullition. La dissolution du tissu est complète en quelques minutes sans mousse. On laisse refroidir et l'on ajoute alors 1 gr. environ de magnésie très pure.

On achève la destruction à la température de 300° environ. On évapore à sec. La masse charbonne et entre en ignition. Il apparait des vapeurs rutilantes qui disparaissent au bout d'un certain temps.

Les cendres obtenues n'étant jamais blanches après ce premier temps, il est nécessaire de les reprendre après refroidissement par 5 ou 10 cm³ d'acide nitrique concentré.

On évapore à sec de nouveau.

On renouvelle ce traitement jusqu'à obtention de cendres blanches.

Dans nos essais, nous avons introduit dès le début quelques petites modifications à cette technique.

1° Nous avons supprimé l'emploi d'eau oxygénée qui renferme assez souvent des traces d'acide phosphorique. Cette suppression est sans réel inconvénient, quand on travaille, comme nous le faisons, sur de très petites quantités de tissus.

2° La magnésie pure exempte de phosphore étant coûteuse, nous la remplaçons par une quantité à peu près équivalente de nitrate de magnésium pur.

Pour l'application de cette méthode au dosage du phosphore par la méthode COPAUX, il était nécessaire de reprendre les cendres par une liqueur sulfurique. Nous nous sommes heurtée ici à un obstacle : il était le plus souvent difficile d'obtenir la dissolution parfaite des cendres dans ce milieu, et nous étions obligée de filtrer pour obtenir une liqueur parfaitement limpide.

D'autre part, pour faible que soit la quantité de magnésie introduite, elle grève néanmoins de façon très sensible la quantité des substances minérales du milieu, et, dans la plupart des cas, au cours de l'application de la méthode COPAUX, pour des raisons mal expliquées, nous ne pouvions faire, après centrifugation, des lectures satisfaisantes (surface de séparation du complexe chargée d'impuretés).

Une étude approfondie de cette méthode nous aurait sans doute permis de tourner ces petites difficultés. Mais des essais parallèlement conduits avec la méthode sulfonitrique nous ayant permis d'appliquer celle-ci de façon tout à fait satisfaisante, nous n'avons pas persisté à appliquer la méthode de MM. FONTÈS et THIVOLLE (1).

Méthode sulfo-nitrique.

Voici la technique que nous avons adoptée.

Les destructions étaient pratiquées le plus souvent sur

(1) Récemment M. MACHEBOEUF et Mlle ZWILLING ont tenté de nouveau d'appliquer cette méthode de destruction du tissu pour le microdosage du phosphore. Ils ont dû y renoncer, ces dosages de phosphore comportant régulièrement une erreur par excès. Ces auteurs précipitaient le phosphore sous forme de phosphomolybdate d'ammonium. Ils pensent que, malgré toutes les précautions, les silicates du verre, attaqués par la magnésie à chaud, passent en faible proportion dans la solution et donnent lieu à la formation de silicomolybdate.

Cette méthode de destruction paraît donc difficilement applicable dans le cas particulier du dosage du phosphore, quelle que soit la méthode employée ensuite pour ce dosage.

(*Soc. de Chimie biol.*, séance du 5 avril 1927).

des poudres d'organes, et, dans un petit nombre de cas, sur des tissus frais.

Pour la commodité des dosages, on a intérêt à détruire des quantités de substance contenant environ 5 mgr. de phosphore. L'importance de nos prises d'essai variait donc suivant la richesse des tissus en phosphore, de 0 gr ,25 à 1 gr. de substance sèche.

La substance est laissée en contact pendant toute la nuit avec 10 cm³ d'acide nitrique pur concentré, dans un ballon de KJELDAHL en verre Pyrex. La destruction se fait ensuite plus calmement, sans mousse et sans risques de pertes. On ajoute, avant de commencer le chauffage, 2 cm³ d'acide sulfurique pur.

Puis le ballon est placé en position inclinée sur la rampe à destruction, et l'on commence un chauffage très doux.

Il se fait un dégagement de vapeurs nitreuses correspondant à une oxydation énergique de la substance organique.

C'est l'un des temps délicats de l'opération, celui où pourraient se produire des pertes de substances phosphorées volatiles, s'il y en a dans le milieu.

Il est indispensable d'éviter à ce moment toute surchauffe.

L'oxydation, commencée à froid, doit se poursuivre à une douce chaleur. Il ne faut pas brusquer le chauffage sous prétexte d'abrégier la durée de l'opération.

Le liquide, d'abord coloré en brun, devient assez rapidement jaune clair, parfois presque incolore. Cette décoloration ne correspond pas à l'oxydation totale de la substance ; elle ne marque pas le terme de l'opération.

On augmente légèrement le chauffage.

Le liquide se concentre, puis des fumées blanches apparaissent, et le contenu du matras brunit. A ce moment, on ajoute à nouveau de l'acide nitrique. Ce temps de la destruction est très délicat : il faut ajouter cet acide goutte à goutte en faisant couler la goutte le long des parois. Ces

précautions sont nécessaires pour éviter les projections qui accompagneraient fatalement l'introduction brutale d'une trop grande quantité d'acide. On a intérêt à ajouter l'acide nitrique dès l'apparition des fumées blanches. Celles-ci précèdent souvent le brunissement du liquide ; en attendant ce dernier phénomène, on risquerait de perdre de l'acide phosphorique entraîné par les vapeurs lourdes d'acide sulfurique. On recommence l'affusion d'acide nitrique, plusieurs fois si cela est nécessaire, jusqu'à décoloration complète ou teinte jaune paille du liquide. Il importe de ne pas prolonger inconsidérément le chauffage, la décoloration étant acquise. Avec l'outillage nécessaire, on peut mener six et même douze destructions de front quand on a suffisamment d'habitude. On doit surveiller de très près les destructions. On peut ainsi modérer ou accélérer le feu suivant le cas, éviter toute surchauffe et toute perte par projection.

Une destruction conduite doucement avec les précautions nécessaires, s'effectue normalement sans perte de phosphore. Il n'en est plus de même si la destruction est conduite trop brutalement, avec un chauffage vif et inutilement prolongé.

L'opération terminée, on laisse refroidir et on ajoute 2 à 3 cm³ d'eau. On porte le mélange à l'ébullition, pour éliminer les dernières traces d'acide nitrique et rester en milieu exclusivement sulfurique.

Il ne reste plus à ce moment qu'à diluer la liqueur de façon convenable pour exécuter les dosages.

Cette dilution est calculée d'après la quantité approximative de phosphore contenue dans la prise d'essai. On a avantage à obtenir une solution contenant environ un milligramme de phosphore dans 10 cm³ (1).

(1) Le taux de 1 mgr. par 10 cm³ de liqueur n'est pas, nous l'avons vu précédemment, étroitement fixé. La prise d'essai peut contenir moins ou plus sans aucun inconvénient.

Comme nous partions le plus souvent d'une prise d'essai contenant environ 5 mgr. de phosphore, le résidu incolore était dilué au volume de 50 cm³. Ceci permettait un lavage rigoureux du ballon de KJELDAHL et donnait la possibilité de pratiquer dans la liqueur obtenue plusieurs dosages.

Contrôle de la méthode sulfo-nitrique.

Nous avons fait parallèlement un certain nombre de dosages de phosphore dans des poudres végétales par la méthode de destruction sulfo-nitrique et par la méthode par voie sèche, genre PREGL, que nous avons décrite.

La concordance s'est montrée excellente en conduisant les opérations ainsi que nous l'avons indiqué.

Voici les résultats de trois expériences :

	Dosage du phosphore par la méthode de POSTERNAK		Ecart
	Destruction par voie sèche P. (mgr.)	Destruction sulfo-nitrique P. (mgr.)	
0 gr.,50 poudre de feuilles de digitale sèche.....	1,035	1,015	— 1,9 0/0.
0 gr.,50 poudre de fruits de digitale secs.....	2,347	2,365	+ 0,7 0/0.
0 gr.,50 poudre de feuilles de menthe (II) sèche...	1,528	1,530	+ 0,1 0/0.

CHAPITRE III.

Résultats du dosage du Phosphore dans les organes de divers Vertébrés.

Nous avons appliqué la méthode de M. COPAUX transformée en microméthode, au dosage du phosphore dans les tissus d'un assez grand nombre d'espèces.

Nous pouvons faire remarquer dès maintenant que d'innombrables dosages de phosphore ont été faits par un grand nombre d'expérimentateurs sur les organes des animaux. Souvent ces dosages étaient faits en vue d'études de chimie alimentaire ; aussi la majorité de ceux-ci visent-ils la chair musculaire. Dans d'autres cas, les chimistes ont spécialisé leur étude à quelques tissus déterminés, par exemple, aux tissus nerveux, spléniques, etc., comme dans le travail si documenté de M. MAURICE [45]. Rarement, l'on s'est préoccupé d'obtenir, par une méthode bien vérifiée, sur des échantillons représentant de véritables moyennes, des chiffres intéressant la plupart des organes d'une même espèce animale et susceptibles d'être comparés. C'est une des raisons qui conféreront, pensons-nous, à notre travail, un réel intérêt.

Dans cette Troisième Partie, nous aurions pu fournir une bibliographie très copieuse, mais tout à fait inintéres-

sante, des dosages de phosphore pratiqués par les chimistes ; on trouvera beaucoup de ces indications dans l'ouvrage de KÖNIG [31] et dans la monographie de KEIRH et FORBES [28].

La méthode de M. COPAUX, à la fois rapide et précise, nous a permis de faire un très grand nombre de dosages et d'établir une nomenclature assez complète.

Nos dosages ont été pratiqués soit sur les organes prélevés par nous-mêmes, soit sur des « poudres organothérapiques » dont l'identité et la bonne préparation étaient tout à fait sûres (1). Dans l'un et l'autre cas, nous avons fait porter ces dosages, non sur un seul organe, un foie, un rein, etc. . . , mais sur plusieurs organes à la fois, plusieurs foies, plusieurs reins, d'une même espèce, de façon à posséder d'emblée des chiffres représentant des « moyennes ». Ces moyennes étaient particulièrement bonnes avec les poudres organothérapiques employées qui résultaient de la réduction en pulpe d'un nombre élevé d'organes identiques.

Effectuer les dosages sur un nombre suffisant d'organes ou sur un mélange de ceux-ci est indispensable pour obtenir des données précises. Malgré la fixité relative des chiffres pour un organe donné, il nous est arrivé de trouver en effet, dans certains organes traités isolément chez un animal d'apparence normale, des chiffres plus ou moins aberrants. Ces variations insolites, dont nous ne trouvons pas toujours l'explication, n'auront pas d'influence sensible sur les chiffres obtenus si l'on fait le dosage sur un grand nombre d'exemplaires du même organe.

Les animaux étaient choisis en bon état de santé, et gardés, chaque fois qu'il était possible, pendant un certain temps en observation pour s'en assurer.

Les animaux d'abattoir échappaient à cet égard à notre

(1) Nous décrirons plus loin, à propos des lipides, la technique détaillée des prélèvements.

contrôle direct. Mais ces animaux subissent un contrôle de la part du Service vétérinaire des abattoirs, et, d'autre part, M. CHOAY, qui nous a fourni nos poudres (1), exerce dans son propre laboratoire un examen minutieux des organes qui lui sont adressés.

Détermination du pourcentage de tissu sec.

Une partie de la pulpe homogène obtenue était réservée pour la détermination du pourcentage de tissu sec, ce qui nous permettait de déterminer la teneur en eau du tissu, par elle-même intéressante, et de rapporter les résultats de nos dosages soit au tissu sec, soit au tissu frais.

Cette détermination doit être faite avec soin. On prélève deux à trois grammes de pulpe fraîche qu'en étale en couche mince dans un petit pèse-filtre taré avec son couvercle. On pèse au 1/10 de mgr.

On dessèche en deux temps :

D'abord à $+ 70^{\circ}$ pendant deux heures.

Puis à $+ 105^{\circ}$ jusqu'à poids constant.

Il est important de surveiller la fin de la dessiccation. On observe en effet qu'après être restée un certain temps à poids constant, la substance sèche tend à s'oxyder en augmentant sensiblement de poids.

Dans le tissu nerveux, où il pouvait y avoir intérêt à étudier séparément substance blanche et substance grise, nous avons examiné ces deux parties.

Les animaux étudiés appartenaient à diverses familles de vertébrés homéothermes, ou poikilothermes.

(1) M. CHOAY ayant procuré au laboratoire, avec la plus extrême complaisance et le plus entier désintéressement, tout ce qui nous fut utile, nous lui adressons nos bien vifs remerciements.

<i>Mammifères</i>	Cheval.
—	Porc.
—	Bœuf.
—	Veau.
—	Mouton.
<i>Oiseau</i>	Coq.
<i>Batracien</i>	Grenouille.
<i>Poisson</i> ..	Gardon.

Tous étaient, ainsi que nous l'avons spécifié, achetés vifs et sacrifiés par nous (section des carotides) ou à l'abattoir avec saignée immédiate. On obtenait ainsi des organes suffisamment exsangues pour que soient réduites au minimum les causes d'erreur apportées par la présence de sang dans les plus irrigués d'entre eux.

Technique résumée des dosages.

Les dosages étaient pratiqués, comme nous l'avons dit, sur des poudres d'organes ou directement sur des organes frais.

Sans qu'il s'agisse d'une condition indispensable, mais pour la commodité des opérations ultérieures, nous faisons, autant que possible, des prises d'essai dont nous estimions qu'elles pouvaient contenir (d'après les premières informations que nous possédions à cet égard) environ 5 mgr. de phosphore.

Ces prises d'essai variaient donc suivant la richesse des tissus en phosphore de 0 mgr.,25 à 1 gramme de substance sèche.

Les pesées étaient faites au dixième de milligramme.

Les poudres d'organes étant très hygroscopiques fixent une certaine quantité d'humidité, même dans des flacons bien clos.

Il est important d'évaluer ce pourcentage d'humidité au moment du prélèvement de la poudre, afin de déterminer

le poids exact de la poudre sèche contenue dans la prise d'essai.

Cette détermination était faite à chaque dosage sur une certaine quantité de poudre placée à l'étuve à $+ 100^{\circ}$ jusqu'à poids constant.

Un simple calcul permettait alors d'introduire la correction nécessaire dans la détermination de la prise d'essai.

Les organes frais étaient soigneusement pulpés. Une partie de la pulpe obtenue servait à déterminer le pourcentage d'humidité. Une seconde partie était employée pour le dosage du phosphore.

La substance, fraîche ou sèche, était introduite dans un ballon de Kjeldahl de 25 cm³ en verre pyrex et détruite selon la technique que nous avons précédemment décrite.

La destruction achevée, on laissait refroidir, puis on ajoutait une petite quantité d'eau distillée et portait à l'ébullition pendant quelques minutes. Les dernières traces d'acide nitrique étaient ainsi éliminées et l'on restait en milieu exclusivement sulfurique.

Le liquide était transvasé dans un ballon jaugé de 50 cm³. On lavait le ballon de Kjeldahl à plusieurs reprises avec quelques cm³ d'eau distillée et, après complet refroidissement, on complétait le volume de 50 cm³.

On obtenait ainsi une liqueur sulfurique dont 10 cm³ contenaient environ 1 mgr. de phosphore.

Lorsque l'on disposait de quantités de tissus très minimes (cœur de grenouille, etc.) et qu'il était impossible de réaliser une prise d'essai contenant 5 mgr. de phosphore, on calculait la teneur approximative de la prise d'essai en phosphore, et, à la fin de la minéralisation, on réduisait en conséquence le volume final de la dilution (1).

(1). Dans le cas où le volume final était réduit à l'extrême (10 cm³), nous avons vu plus haut, page 34, qu'il était nécessaire de supprimer l'addition d'acide sulfurique diluée au 1/10 au cours de la formation du complexe.

Pour le dosage du phosphore, on prélevait dix centimètres cubes de liquide, que l'on introduisait dans l'ampoule spéciale de COPAUX, dont la tige porte une graduation en quarantièmes de centimètre cube, et l'on achevait le dosage ainsi qu'il a été dit plus haut en détail (page 26)

Nous avons réuni dans le tableau suivant (Tableau I) (pages 57, 58, 59), l'ensemble des résultats relatifs au phosphore total. Les organes sont classés dans l'ordre décroissant de leur teneur en phosphore *pour cent de tissu frais*.

Les résultats sont exprimés en phosphore, et non pas en anhydride ou acide phosphorique, cette notation nous ayant paru la plus logique.

Sans vouloir nous perdre dans les commentaires, un regard jeté sur ce tableau suggère cependant un certain nombre de remarques intéressantes.

On peut observer d'abord que, si l'on cherche à classer les organes dans l'ordre décroissant de leur teneur en phosphore, on obtient une classification assez différente suivant que l'on considère le tissu sec ou le tissu frais.

C'est ainsi que le thymus de veau vient nettement en tête par sa teneur en phosphore pour cent de tissu sec (nous mettons à part le cerveau de coq, exceptionnellement riche). Il se trouve au contraire nettement surpassé par la moelle épinière, lorsqu'on rapporte le phosphore au tissu frais.

Or, il est de toute évidence que l'évaluation par rapport au tissu frais présente un intérêt dominant ; car, s'il est commode d'éliminer l'eau pour les besoins de l'analyse, il est tout à fait illogique de ne pas tenir compte de ce « constituant » du tissu dans l'interprétation biologique des résultats.

Dans ces conditions, le tissu nerveux, en l'espèce la moelle épinière, se place très nettement en tête par sa richesse en phosphore total : de 10 à 20 % supérieure à celle du thymus.

TABLEAU I.
Phosphore total.

	Extrait sec o/o	Eau o/o	Phosphore total	
			p. 100 de tissu sec	p. 100 de tissu frais
<i>Moëlle épinière</i> de cheval.....	36,2	63,8	1,659	0,600
— de porc.....	33	67	1,660	0,547
— de bœuf.....	34,3	65,7	1,702	0,583
<i>Thymus</i> de veau.....	24	76	2,030	0,487
<i>Pancréas</i> de cheval.....	25,2	74,8	1,820	0,458
— de porc.....	27	73	1,690	0,456
— de bœuf.....	26,3	73,7	1,660	0,436
<i>Surrénale</i> de cheval.....	25	75	1,376	0,344
— de bœuf.....	23	77	1,543	0,354
— de veau.....	22,2	77,8	1,677	0,372
— de mouton.....	20	80	1,740	0,348
<i>Substance cérébrale grise + blanche</i> de cheval.....	24,5	75,5	1,530	0,374
— de bœuf.....	23	77	1,440	0,331
<i>Cerveau</i> de gardon.....	21,40	78,60	1,700	0,364
— de lapin.....	27,43	72,57	1,520	0,417
— de coq.....	22,20	77,8	2,040	0,454
<i>Substance blanche cérébrale</i> de cheval.....	24,5	75,5	1,510	0,369
— de porc.....	22,2	77,8	1,540	0,341
— de mouton.....	22,8	77,2	1,590	0,362
<i>Substance grise cérébrale</i> de cheval.....	23	77	1,694	0,388
— de porc.....	22	78	1,570	0,345
— de mouton.....	24	76	1,490	0,358
<i>Testicule</i> de cheval.....	15,60	84,4	1,219	0,200
— de porc.....	18	82	1,530	0,275
— de taureau.....	12	88	1,710	0,205
— de bélier.....	22,3	73,7	1,540	0,343
— de coq.....	20	80	1,682	0,336
<i>Rate</i> de cheval.....	22,6	77,4	1,205	0,272
— de porc.....	23	77	1,300	0,299
— de bœuf.....	22,7	77,3	1,300	0,295
— de veau.....	22,1	77,9	1,460	0,322

TABLEAU I

(Suite)

	Extrait sec o/o	Eau o o	Phosphore total	
			p. 100 de tissu sec	p. 100 de tissu frais
<i>Rate</i> de mouton	22,6	77,4	1,417	0,320
— de lapin	22	78	1,78	0,391
<i>Rein</i> de cheval	20,4	79,6	1,144	0,227
— de porc	20	80	1,160	0,232
— de bœuf	20,2	79,8	1,091	0,220
— de veau	20	80	1,340	0,268
— de mouton	20,9	79,1	1,280	0,267
— de lapin	23,05	76,95	1,320-1,380	0,305-0,310
— de gardon	24,09	75,91	1,320	0,317
<i>Foie</i> de cheval	31,2	68,8	1,015	0,316
— de porc	30	70	1,200	0,360
— de bœuf	33	57	1,310	0,432
— de veau	28,2	71,8	1,185	0,334
— de mouton	33,7	66,3	1,177-1,222	0,396-0,411
— de lapin	28,60	71,40	1,269	0,362
— de gardon	23,05	76,95	1,235	0,285
— de grenouille	25	75	0,839	0,250
— de coq	27,9	72,1	1,010	0,281
<i>Parathyroïde</i> de cheval	22	78	1,235	0,270
<i>Hypophyse</i> de cheval	22,3	77,7	1,215	0,270
— de bœuf	21,3	78,7	1,225	0,261
— de mouton	25	75	1,200	0,300
<i>Poumon</i> de cheval	20,5	79,5	1,025	0,210
— de porc	22,9	77,1	1,150	0,263
— de bœuf	20	80	0,986	0,197
— de veau	20	80	1,117	0,223
— de mouton	21,1	78,9	0,984	0,207
— de lapin	22,05	77,95	1,440-1,394	0,317-0,307
— de coq	26,29	73,71	1,024	0,268
<i>Corps jaune</i> de vache	21	79	1,350	0,283
<i>Placenta</i> de vache	17	83	1,270	0,216
<i>Muqueuse gastrique</i> de porc	20	80	1,100	0,220

TABLEAU I

(Suite et fin)

	Extrait sec o/o	Eau o/o	Phosphore total	
			p. 100 du tissu sec	p. 100 du tissu frais
<i>Cœur</i> de cheval.....	24,28	75,72	0,939	0,228
— de porc.....	22,2	77,8	0,976	0,216
<i>Myocarde</i> de bœuf.....	23	77	0,960	0,220
<i>Cœur</i> de veau.....	21	79	1,088	0,228
— de mouton.....	21,2	78,8	0,989	0,209
— de lapin.....	22,9	77,1	0,970	0,223
— de coq.....	21,6	78,4	1,020	0,220
— de gardon.....	18,5	81,5	1,010	0,203
<i>Muscle</i> de cheval.....	27	73	0,783	0,211
— de porc.....	24,9	75,1	0,815	0,203
— de bœuf.....	25,2	74,8	0,857	0,216
— de veau.....	24,7	75,3	0,966	0,238
— de mouton.....	25	75	0,861	0,215
— de lapin.....	25,07	74,93	0,977	0,245
— de grenouille.....	23	77	0,997	0,229
— de gardon.....	20,6	79,4	1,072	0,220
— de coq.....	22,60	77,4	0,921	0,208
<i>Ovaire</i> de jument.....	16,5	83,5	0,804	0,133
— de truie.....	18,6	81,4	0,970	0,180
— de vache.....	13	87	0,880	0,114
— de brebis.....	18	82	1,040	0,187
— de lapin.....	26,8	73,2	1,014	0,271
— (ovules) de grenouille.....	20	80	1,490	0,298
<i>Appareil génital</i> ♀ de gardon.....	32,33	67,7	0,866	0,279
<i>Prostate</i> de cheval.....	20	80	0,663	0,132
<i>Thyroïde</i> de cheval.....	25	75	0,483	0,121
— de porc.....	28	72	0,456	0,127
— de bœuf.....	27,3	72,7	0,527	0,144
<i>Mamelle</i> de jument.....	16,6	83,4	0,614	0,102
— de vache.....	23	77	0,547	0,125

Cette supériorité ne représente pas d'ailleurs un « caractère fondamental », et ce tableau montre en effet que la teneur en « phosphore total » ne différencie guère, en somme, la substance nerveuse d'un assez grand nombre d'autres tissus.

Il en sera tout autrement, nous le verrons, lorsque nous envisagerons, au lieu du « phosphore total », telle ou telle « forme » de phosphore.

Seule peut être vraiment caractéristique d'un tissu, telle « forme » de phosphore qui s'y trouve prédominante. Le fait apparaît extrêmement net si l'on rapproche l'un de l'autre deux tissus le plus typiquement différents à cet égard, tels que l'os et la substance nerveuse.

Ces réserves faites, il nous est impossible de ne pas observer un certain nombre de points assez remarquables :

1° Chez un animal donné, les teneurs en phosphore total des divers organes (pour cent de tissu frais) sont franchement différentes : les nombres peuvent être rangés en une série régulièrement décroissante.

Les nombres suivants (Tableau II), établis chez le porc, sont suffisamment démonstratifs à cet égard.

Les différences sont exactement de grandeur analogue dans tous les autres cas que nous avons étudiés.

Il est intéressant de remarquer que les variations dans la richesse des organes en phosphore ne sont pas simplement en rapport avec la teneur plus ou moins élevée de l'organe en eau.

Le pancréas et la glande thyroïde, le premier très riche, la seconde pauvre en phosphore, présentent en effet le même degré d'hydratation (72 0/0).

Nous n'insisterons pas davantage sur ce point qui méritait d'être noté.

Nos analyses n'ont porté que sur des organes mous ; il n'est donc pas question ici du tissu osseux dont chacun sait, d'ailleurs, qu'il est, de tous, le plus riche en phosphore.

TABLEAU II.

Porc	Extrait sec o/o	Eau o/o	Phosphore total		Richesse relative des organes, le plus riche étant coté cent
			p. 100 de tissu sec	p. 100 de tissu frais	
Moelle épinière.....	33	67	1,660	0,547	100
Pancréas	27	73	1,690	0,456	83,3
Foie	30	70	1,200	0,360	65,8
Substance grise	22	78	1,570	0,345	63
Substance blanche ..	22,2	77,8	1,540	0,341	62,3
Rate	23	77	1,300	0,299	54,6
Testicule ..	18	82	1,530	0,275	50,2
Poumon	22,9	77,1	1,150	0,263	48,1
Rein	20	80	1,160	0,232	42,4
Estomac.....	20	80	1,100	0,220	40,2
Cœur.....	22,2	77,8	0,976	0,216	39,4
Muscle	24,9	75,1	0,815	0,203	36,7
Ovaire truie.....	18,6	81,4	0,970	0,180	32,9
Thyroïde	28	72	0,456	0,127	23,2

2° Chez les animaux d'espèces voisines et de conditions physiologiques comparables, la classification des organes frais d'après leur richesse en phosphore est sensiblement invariable.

TABLEAU III.

Bœuf.

	Phosphore ‰ de tissu frais
Moelle épinière	0,583
Pancréas	0,436
Foie.....	0,432
Surrénale.....	0,354
Substance cérébrale totale	0,331
Rate.....	0,295
Corps jaune de vache..	0,280
Hypophyse ..	0,261
Poumon	0,256
Myocarde.....	0,223
Rein	0,220
Placenta	0,216
Muscle	0,216
Testicule	0,205
Thyroïde	0,144
Mamelle.....	0,125
Ovaire	0,114

Porc.

Moelle épinière	0,547
Pancréas	0,456
Foie.....	0,360
Substance grise	0,345
— blanche	0,341
Rate	0,299
Testicule	0,275

Poumon	0,263
Rein	0,232
Estomac.....	0,220
Cœur.....	0,216
Muscle	0,203
Ovaire	0,180
Thyroïde	0,127

TABLEAU IV.

Cheval.

	Phosphore ‰ de tissu frais
Moelle épinière	0,600
Pancréas	0,458
Substance grise.....	0,388
Cerveau total	0,374
Substance blanche	0,369
Surrénale.....	0,344
Foie.....	0,316
Rate	0,272
Parathyroïde	0,270
Hypophyse	0,270
Poumon	0,263
Cœur.....	0,228
Rein	0,227
Muscle	0,211
Testicule	0,200
Ovaire	0,133
Prostate	0,132
Thyroïde	0,121
Mamelle.....	0,102

TABLEAU V.

Mouton.

	Phosphore ‰ de tissu frais
Foie	0,396
	0,411
Surrénale	0,389
Substance blanche....	0,362
— grise	0,358
Rate	0,320
Hypophyse	0,300
Rein	0,267
Thyroïde	0,230
Muscle	0,215
Cœur.....	0,209
Poumon	0,207
Ovaire	0,187

TABLEAU VI.

Veau.

	Phosphore ‰ de tissu frais
Thymus	0,487
Surrénale.....	0,372
Foie.....	0,334
Rate	0,322
Rein	0,268
Muscle	0,238
Cœur.....	0,228
Poumon	0,223

TABLEAU VII.

Lapin.

	Phosphore ‰ de tissu frais
Rate	0,430
Cerveau	0,417

Foie	0,362
Poumon	0,307
Rein	0,305
Ovaire.....	0,271
Muscle	0,260
Cœur.....	0,223

TABLEAU VIII.

Coq.

	Phosphore ‰ de tissu frais
Cerveau	0,454
Foie	0,281
Poumon	0,268
Testicule	0,244
Cœur.....	0,220
Muscle	0,208

TABLEAU IX.

Gardon.

	Phosphore ‰ de tissu frais
Cerveau	0,364
Rein	0,317
Foie.....	0,285
Appareil génital.....	0,279
Muscle	0,220
Cœur....	0,203

TABLEAU X.

Grenouille.

	Phosphore ‰ de tissu frais
Appareil génital.....	0,298
Foie	0,250
Muscle	0,229

La comparaison des Tableaux (II), (III), (IV), (V) se rapportant au porc, au bœuf, au cheval et au mouton démontre ce point de la façon la plus nette.

Cette règle s'applique encore, quoique de façon moins précise, lorsqu'on compare entre eux des animaux d'espèces très différentes.

C'est ce qu'on peut conclure en rapprochant les Tableaux (VI), (VII), (VIII), (IX), (veau, lapin, gardon, grenouille), des Tableaux précédents.

3° Pour un organe donné, chez des animaux d'espèces rapprochées et de conditions physiologiques comparables, la teneur en phosphore pour cent de tissu frais s'écarte peu d'une moyenne déterminée.

C'est ce que l'on peut constater par l'examen du Tableau XI. Nous y avons calculé, pour chaque organe, la teneur moyenne en phosphore pour cent de tissu frais, chez les vertébrés supérieurs (Bœuf, Mouton, Porc, Cheval, Veau, Lapin).

TABLEAU XI.

		Phosphore pour cent de tissu frais	Moyenne	Ecart $\frac{\circ}{\circ}$ par rapport à la moyenne
<i>Surrénale</i>	Veau...	0,372	0,354	+ 5
	Bœuf...	0,354		0
	Mouton.	0,348		— 1,7
	Cheval..	0,344		— 2,8
<i>Foie</i>	Bœuf...	0,432	0,366	+15
	Mouton.	0,396		+ 7
	Lapin ..	0,362		— 1
	Porc ...	0,360		— 1
	Veau...	0,334		— 7
	Cheval..	0,316		—13
<i>Cœur</i>	Cheval..	0,228	0,220	+ 3,5
	Veau...	0,228		+ 3,5
	Lapin ..	0,223		+ 1,3
	Bœuf...	0,220		0
	Porc ...	0,216		— 1,8
	Mouton.	0,209		— 5
<i>Pancréas</i>	Cheval .	0,458	0,450	+ 1,7
	Porc ...	0,456		+ 1,3
	Mouton.	0,436		— 3,3
<i>Moelle épinière</i>	Cheval..	0,600	0,573	+ 4,5
	Bœuf...	0,583		+ 1,7
	Porc....	0,547		— 4,5
<i>Rate</i>	Veau...	0,322	0,301	+ 6,6
	Mouton.	0,320		+ 5,9
	Porc....	0,299		0
	Bœuf...	0,295		— 2
	Cheval..	0,272		— 9,3
<i>Muscle</i> (cuisse ou fesse) ...	Veau...	0,238	0,216	+ 9,6
	Bœuf...	0,216		0
	Mouton.	0,215		0,4
	Cheval..	0,211		— 2,3
	Porc....	0,203		

TABLEAU XI (Suite).

		Phosphore pour cent de tissu frais	Moyenne	Ecart $\frac{0}{100}$ par rapport à la moyenne
<i>Rein.....</i>	Veau...	0,268	0,244	+ 8,9
	Mouton..	0,267		+ 8,6
	Porc...	0,232		— 4,9
	Cheval..	0,227		— 6,9
	Bœuf...	0,220		— 9,8
<i>Poumon</i>	Porc....	0,263	0,222	+15
	Veau...	0,223		+ 0,4
	Cheval..	0,210		— 5,4
	Mouton..	0,207		— 6,7
	Bœuf...	0,197		—11
<i>Hypophyse.</i>	Mouton..	0,300	0,277	+ 7,6
	Cheval..	0,270		— 2,5
	Bœuf...	0,261		— 5,8
<i>Testicule ...</i>	Bélier ..	0,343	0,255	+25,6
	Porc...	0,275		+ 7,2
	Taureau	0,205		—19,6
	Cheval..	0,200		—21,5
<i>Ovaires</i>	Brebis..	0,187	0,153	+18
	Truie...	0,180		+15
	Jument..	0,133		—13
	Vache...	0,114		—25
<i>Thyroïde</i>	Bœuf...	0,144	0,130	+ 9,7
	Porc....	0,127		— 2,3
	Cheval..	0,121		— 6,9
<i>Subs.cérébrale blanche</i>	Cheval..	0,369	0,357	+ 3,2
	Mouton..	0,362		+ 1,3
	Porc....	0,341		— 4,5
<i>Subs. cérébrale grise.</i>	Cheval..	0,388	0,363	+ 6,4
	Mouton..	0,358		— 1,3
	Porc....	0,345		— 4,9

Si l'on prend, pour limite de tolérance des écarts physiologiques normaux, le chiffre de 10 pour 100, on voit que les organes peuvent se classer en deux groupes :

	Moyenne trouvée	Ecart maximum par rapport à la moyenne	Ecart moyen en valeur absolue	
1 ^{er} GROUPE.				
Moelle épinière	0,573	+ 4,5	3,5	
Pancréas	0,450	— 3,3	2,1	
Cerveau {	Substance grise.....	0,363	+ 6,4	4,2
	Substance blanche ..	0,357	— 4,9	3
Surrénale	0,354	+ 5	2,3	
Rate	0,301	— 9,3	4,7	
Hypophyse	0,277	— 7,6	5,3	
Cœur	0,220	— 5	2,5	
Muscle	0,216	+ 9,6	3,6	
Thyroïde	0,130	+ 9,7	6,3	
Foie	0,366	+15	7,3	
Poumon	0,222	+15	7,7	
Rein	0,244	— 9,8	7,8	
2 ^e GROUPE.				
Testicule	0,255	+25,6	18,5	
Ovaire.....	0,153	—25	17,7	

Sur les quinze organes examinés, treize se rangent dans le premier groupe, deux seulement dans le second groupe.

Autrement dit, dans la plupart des cas, le taux du phosphore total pour cent de tissu frais présente une fixité très nette (particulièrement remarquable dans la moelle, la substance cérébrale, le pancréas, les surrénales, le muscle cardiaque, le muscle, la rate, l'hypophyse, la thyroïde).

Le rein, et surtout le poumon et le foie, se montrent moins constants. Nous reviendrons plus loin sur ce point.

Dans le second groupe, au contraire, le phosphore total se montre un élément variable : mais ces variations s'expliquent de la façon la plus simple par suite des fonctions physiologiques spéciales des organes considérés.

Dans le testicule et l'ovaire, on voit le phosphore total varier dans des proportions considérables d'un animal à un autre.

Le simple examen des chiffres que nous rapportons, montre que ces variations ne sont pas spéciales au phosphore. Les coefficients d'hydratation qui ont été déterminés sur des centaines de glandes se montrent, contrairement à l'ordinaire, extrêmement variables : du simple au double dans certains cas. Enfin, l'examen histologique de ces organes montre que leur structure cellulaire elle-même est en perpétuelle évolution.

Il est évident que les variations dans l'hydratation de l'organe peuvent, dans une certaine mesure, expliquer les variations de taux du phosphore dans l'organe frais, les deux données variant en sens inverse l'une de l'autre.

Mais les chiffres montrent que, pour une variation

de 12 % dans l'hydratation (testicule de cheval et testicule de bœlier), la variation de la teneur en phosphore en sens inverse est de 41 %.

Testicule	Teneur en eau %	P. % organe frais
Bœlier	73,7	0,343
Porc	82	0,275
Cheval	84,4	0,200
Taureau	88	0,205

Entre le testicule du bœlier et celui du porc, la différence d'hydratation est de 10 % tandis que le taux du phosphore varie de 20 %, etc...

Il s'agit donc bien de variations dans la composition chimique même du tissu.

Ces modifications profondes sont en rapport avec des périodes de repos ou d'activité des glandes, liées aux différentes phases de la vie génitale et du cycle œstral.

Dans le foie et les poumons, les variations, quoique notables, sont beaucoup moins marquées, et l'on voit, d'après nos chiffres, que si l'écart maximum atteint pour le foie + 15 %, l'écart moyen, dans six espèces différentes, est de 8 % en valeur absolue. Pour le poumon, dans cinq espèces, il est de 7,7 %.

Ici encore les fonctions physiologiques des organes sont à considérer. Le foie, est un des centres les plus actifs de métabolisme des corps gras, et il semble établi, par les récents travaux de ROGER et BINET, que le poumon joue un rôle analogue. Si l'on admet, avec LOEW, que la

combustion des acides gras est en relation étroite avec la présence catalysante du phosphore, les variations de cet élément au sein des deux organes précités peuvent être logiquement interprétées.

Nous aurons d'ailleurs l'occasion de revenir sur ce point en constatant que, dans ces mêmes organes, les variations du phosphore lipidique sont parallèles aux variations du phosphore total. Si la molécule des phosphatides est précisément en jeu dans le métabolisme des acides gras, il y a là un fait qui corrobore fortement l'interprétation précédente.

Ceci dit, il résulte avant tout de l'ensemble des chiffres obtenus que, en dehors des organes génitaux et, à un degré beaucoup moindre, des organes à fonction lipodirigée, le taux du phosphore total dans un organe quelconque se révèle sensiblement constant.

Cette « constance » n'a pas, il faut y insister, la rigueur mathématique qui s'attache habituellement à ce mot dans les sciences. Les phénomènes vitaux semblent bien, en effet, incompatibles avec toute notion de parfaite fixité. Qu'il s'agisse du pH sanguin ou du taux d'un élément chimique dans un tissu, on ne peut prononcer les mots de « fixité » ou de « constance » qu'en sous-entendant le mot « relative ». Et il semble certain que les variations observées, en dehors de toute possibilité d'erreur expérimentale, ne sont pas seulement des variations de hasard, explicables par une marge de tolérance des centres régulateurs. Elles sont très probablement en rapport plus ou moins direct avec les phénomènes biologiques dominants dans un instant déterminé.

Ce que précise alors le mot « constante », c'est l'étroitesse du champ *normal* des variations.

Les « constantes » sont des « moyennes physiologiques », l'expression « constante » signifiant que les chiffres habituels oscillent peu autour de ces moyennes.

Les chiffres que nous avons trouvés au cours de nos analyses pour l'hydratation des divers tissus et les chiffres donnés par MM. MAYER et SCHAEFFER eux-mêmes, soit pour l'eau, soit pour le phosphore lipidique (constantes cellulaires), prouvent suffisamment l'accord entre ces considérations et la pensée qui a guidé ces savants dans l'établissement de la notion des « constantes chimiques cellulaires ».

Nous pouvons donc conclure des chiffres que nous avons rapportés, que *le phosphore total rapporté au tissu frais a la valeur d'une constante cellulaire.*

Cette notion s'applique en principe à tous les organes ; mais pour certains, dont l'activité est sujette à d'amples variations (organes génitaux principalement), elle ne se vérifie guère en raison de la difficulté de comparer des organes dans des états physiologiques réellement comparables.

4° Chez des animaux d'espèces éloignées, le phosphore, s'il reste, par sa quantité déterminée, une caractéristique de chaque organe dans chacune des espèces, n'apparaît plus aussi nettement comme une constante caractéristique de l'organe à travers les espèces.

C'est ainsi que nous n'avons pu introduire dans le Tableau XI (page 65), ni le Coq, ni le Lapin, ni la Grenouille, ni le Gardon. Nous comparons dans le Tableau suivant (Tableau XII) les moyennes du Tableau XI avec les chiffres trouvés pour ces derniers animaux.

TABLEAU XII.

Organes	Phosphore total pour cent de tissu frais				
	Moyenne établie pour les animaux d'espèces voisines	Coq	Lapin	Gardon	Grenouille
Rate	0,301	—	0,420	—	—
Cerveau	0,360	0,454	0,417	0,364	—
Foie	0,366	0,281	0,362	0,285	0,250
Poumon	0,222	0,268	0,307	»	—
Rein	0,244	—	9,305	0,317	—
Ovaire	0,153	—	0,271	»	»
Testicule	0,255	0,241	»	»	»
Appareil génital ..	—	—	—	0,279	0,298
Muscle	0,216	0,208	0,245	0,220	0,229
Cœur	0,220	0,220	0,223	0,203	—

L'interprétation de ce Tableau est évidemment beaucoup moins féconde que celle du Tableau précédent (Tableau XI). Il importe de signaler d'ailleurs, qu'elle repose sur des données moins précises.

Tandis, en effet, que tous les chiffres précédents représentaient des moyennes obtenues sur un assez grand nombre d'organes, des difficultés d'ordre matériel nous ont obligée à pratiquer ici nos dosages sur un nombre moindre d'organes : 3 ou 4 organes identiques seulement pour le lapin et le coq, une vingtaine pour le gardon et la grenouille.

Quoi qu'il en soit, nous remarquons les faits suivants :

Le cœur, quelle que soit l'espèce considérée et ses conditions d'existence, a une teneur remarquablement fixe en phosphore total, chez tous les animaux à sang chaud. Chez le gardon, le chiffre reste encore très étroitement comparable et l'écart avec les précédents n'atteint pas 10 %.

Une fixité assez remarquable se retrouve également pour le phosphore total du tissu musculaire. Chez tous les animaux, homéothermes ou poikilothermes, les chiffres obtenus oscillent de moins de 10 % autour d'une même moyenne.

Cette remarque nous semble particulièrement intéressante.

Les autres organes présentent de notables variations — très expliquables, nous l'avons déjà vu, pour les organes génitaux — moins facile à interpréter pour d'autres.

Le foie, ainsi qu'on pouvait s'y attendre, donne lieu à d'importantes fluctuations, extrêmement marquées surtout chez les animaux à sang froid. Nous aurons l'occasion de revenir plus longuement sur ces faits dans le Chapitre suivant et dans nos Conclusions générales.

On pourrait être surpris, d'autre part, par la teneur très élevée en phosphore total de la rate de lapin. Ce chiffre nous semble explicable par le fait que tous les lapins que nous avons sacrifiés étaient des animaux jeunes. Or, il a déjà été signalé (1) que la rate des animaux jeunes est beaucoup plus riche en phosphore que la rate des animaux adultes. Si nous rappelons à cette occasion les deux chiffres obtenus par nous pour :

La rate du bœuf	0,295
Et la rate du veau	0,322

il nous paraît logique d'admettre cette interprétation.

(1) Voir le travail de MAURICE (p. 65), « aucun autre organe mieux que la rate ne présente de variations systématiques dans la teneur en phosphore avec l'âge... »

KRÜGER trouve chez le veau : 1,82 % de phosph. total (tissu sec), et

Conclusions.

Il ressort de cette comparaison d'ensemble que la constance du phosphore total semble acquérir, pour le cœur et pour le muscle, son maximum de généralité. Elle paraît en effet, d'après nos chiffres et dans la limite de nos expériences, indépendante de l'espèce, de l'âge et des conditions d'existence de l'animal (homéotherme ou poikilotherme).

Pour les autres organes (réserve faite pour les organes génitaux), elle garde toute sa valeur dans les limites déterminées : parenté d'espèce, âge, condition d'existence.

Les organes génitaux font nettement exception et la notion de constante n'y présente plus le même intérêt.

1,26 ‰ chez la vache ; 1,37 chez le bœuf. *Zeitschr. f. Biol.*, XXXI, N.F. XIII, 1895.

MAURICE trouve, chez des chiens, les chiffres suivants :

Age	Rate	
	P. ‰ de tissu sec	P. ‰ de tissu frais
Quelques heures à 15 jours...	1,70	0,35
4 semaines à 4 mois.....	1,61	0,34
6 mois à 13 mois.....	1,32	0,29
2 ans à 8 ans	1,09	0,25

Ces chiffres sont en excellent accord avec les nôtres (nous trouvons pour la rate le chiffre moyen de 0,301).

Ils montrent bien que la notion de constante ne peut s'appliquer que dans des conditions physiologiques comparables.

CHAPITRE IV.

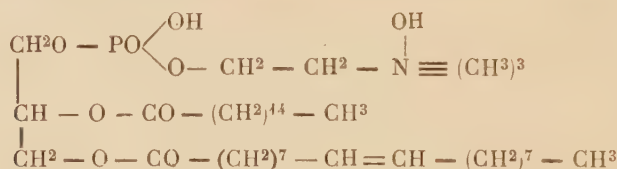
Extraction des lipides et dosage du phosphore lipidique.

Le dosage du phosphore lipidique est le dosage du phosphore contenu dans les lipides totaux préalablement extraits du tissu par une méthode appropriée.

L'extrait « lipidique » des tissus renferme un grand nombre de substances que rapprochent certains caractères de solubilité, de constitution et de similitude de rôle physiologique. Quand on descend dans l'examen détaillé de ces caractères, on s'aperçoit d'ailleurs que le rapprochement est beaucoup moins légitime qu'il ne le semble de prime abord.

Parmi ces substances comptent surtout : les glycérides, les phosphatides, les stérols et stérides. D'autres, tels que les cérébrosides, comptent quantitativement peu ou n'ont qu'une localisation particulière. Des divers « lipides », seuls renferment du phosphore et seuls par conséquent nous intéressent ici, ceux que l'on réunit, précisément en raison de ce fait, sous le nom de « phosphatides ». Ces corps sont des *éthers phosphoriques* ; c'est là leur caractère essentiel. L'acide phosphorique y intervient le plus souvent pour éthérifier une fonction alcool du glycérol : c'est le cas dans les lécithides. Il peut aussi éthérifier une fonction alcool d'un autre corps : ainsi, dans la sphingomyéline il éthérifie l'une des deux fonctions alcool de la sphingosine,

Les phosphatides renferment généralement de l'azote et toujours des acides gras (de poids moléculaire habituellement élevé). L'histoire chimique des phosphatides est encore très confuse et compliquée. Ceci tient à la difficulté qu'éprouvent les chimistes pour isoler des substances bien définies à partir des mélanges naturels : isolement d'autant plus délicat que ces corps présentent de nombreux isomères. Il peut ainsi exister neuf lécithides oléo-palmiques dérivant : six de l'acide α glycérophosphorique, trois de l'acide β -glycérophosphorique. Voici, à titre d'exemple, la formule d'un lécithide :



Bien que l'on trouve, dans la littérature un grand nombre de phosphatides de noms différents, classés, selon la méthode de THUDICUM, d'après le rapport du phosphore à l'azote, il semble (MAC LEAN, LEVENE) [43] que le nombre des espèces chimiques véritables soit beaucoup plus petit.

En résumé, quand nous parlons de « phosphore lipidique », il s'agit du phosphore qui se trouve inclus dans la molécule des « phosphatides » (dont les lécithides sont les mieux connus) et qui se trouve dans « l'extrait lipidique » des tissus.

Le dosage du phosphore lipidique n'aura donc de réelle valeur, qu'autant qu'on aura pu extraire du tissu les substances lipidiques phosphorées dans leur totalité et dans leur parfaite intégrité.

La question nécessite en conséquence l'étude préalable de deux points fondamentaux :

- 1° Les conditions de récolte et de conservation du tissu ;
- 2° Les techniques d'extraction des substances lipidiques des tissus.

I. — Conditions de récolte et de conservation du tissu.

Tandis que l'altération de la matière première n'a qu'une importance relative lorsqu'il s'agit du dosage du phosphore total, cette altération devient un obstacle primordial pour le dosage rigoureux du phosphore lipidique. Elle aboutit en effet à des transformations chimiques complexes de ces substances dont les propriétés fondamentales, notamment la solubilité, se trouvent profondément modifiées (1).

Prélèvement des organes.

Au laboratoire, nous prélevions les organes au moment même du sacrifice de l'animal. L'animal était sacrifié par section des carotides et saigné à blanc, afin d'obtenir à l'autopsie des organes aussi exsangues que possible. Cette manière de faire est évidemment importante : le sang, dans certains organes très fortement irrigués peut apporter en effet une double cause d'erreur :

1° en faussant la pesée initiale du tissu et par suite tous les calculs ultérieurs de pourcentage ;

2° en faussant les chiffres absolus obtenus dans les divers dosages par sa teneur propre en l'élément dosé (laquelle peut, dans certains cas, être fort différente de la teneur du tissu en ce même élément).

(1) Une des propriétés les plus caractéristiques de la lécithine, est sa très grande auto-oxydabilité. Son indice d'iode diminue très rapidement lorsqu'on la laisse au contact de l'air, par suite de la fixation de l'oxygène sur les acides non saturés. C'est ce phénomène qui a conduit certains auteurs à penser que la lécithine et plus généralement les lipides phosphorés jouaient un rôle important dans le transport de l'oxygène dans l'organisme ou dans la combustion des acides gras (voir pages 2 et 69).

Le traitement des organes doit suivre immédiatement leur prélèvement.

A l'abattoir, où les organes des gros animaux étaient prélevés, tous les animaux sont saignés de même immédiatement après l'abattage, et les tissus obtenus étaient suffisamment exsangues. Prélevés dans les p'us courts délais, ils étaient transportés en hâte au laboratoire. Quelque célérité que l'on apporte dans ces opérations de prélèvement et de transport, elles ne nécessitent pas moins quelques délais, 2 à 3 heures, par exemple, si bien que le premier point qui s'imposa à notre attention, fut de savoir si ces 2 à 3 heures séparant la mort de l'animal du traitement des organes ne représentaient pas un délai suffisant pour que l'altération des tissus se manifestât par des erreurs dans le titre trouvé en phosphore lipidique.

Les expériences ont été faites sur des lapins. Nous avons choisi un certain nombre d'organes, assez variés pour que l'expérience ait une portée suffisamment générale, et assez volumineux pour pouvoir être divisés en un certain nombre d'échantillons aussi homogènes que possible.

Tous les échantillons étaient soumis exactement au même traitement (fixation par l'alcool bouillant et épuisement convenable). Mais le premier d'entre eux était traité immédiatement, tandis que les autres étaient conservés dans des verres de montre à la température du laboratoire, pendant des temps variés (1).

(1) **Détail du traitement.** — L'échantillon finement divisé est projeté dans 80 cm³ d'alcool à 95° bouillant. Le mélange est maintenu pendant dix minutes à l'ébullition. A partir de ce moment, toute cause de transformation des lipides est éliminée. Au bout de 12 heures de séjour dans l'alcool, le tissu durci est de nouveau divisé au ciseau en parcelles aussi fines que possible. La liqueur alcoolique est filtrée et conservée, le filtre, portant le tissu est placé dans la cartouche de l'extracteur de KUMAGAWA. On épuise pendant 8 heures, et le liquide alcoolique d'extraction est réuni à la liqueur préalablement mise à part. Les dosages sont pratiqués selon la méthode que nous décrivons plus loin en détail.

Nous avons réuni dans ce tableau l'ensemble des résultats obtenus.

Nature du tissu	Poids de la prise d'essai (tissu frais)	Temps écoulé	P. lipidique trouvé	P. lipidique ‰ de tissu frais	Variations du phosphore lipidique rapporté à cent
			mg.		
Muscle	4,8093	immédiat.	1,80	0,037	100
	4,0148	4 heures	1,365	0,034	91,8
	4,7188	5 —	1,65	0,034	94,3
	4,6868	6 —	1,65	0,035	94,6
	4,7887	12 —	1,70	0,035	95,9
	4,9025	24 —	1,86	0,037	100
Cœur	3,088	immédiat.	2,79	0,090	100
	3,000	4 heures	2,76	0,092	102,2
	3,550	6 —	3,05	0,086	95,5
	3,7020	12 —	3,31	0,089	98,9
Cerveau	2,5653	immédiat.	5,92	0,231	100
	2,1360	4 heures	5,5	0,233	100,4
	2,0100	6 —	4,45	0,223	96,5
	1,8370	12 —	3,82	0,208	90
Poumon	2,0883	immédiat.	2,905	0,139	100
	2,2568	4 heures	3,140	0,139	100
	2,0240	6 —	3,875	0,190	136,6
Rein	4,2038	0	5,044	0,120	100
	3,6183	4 heures	4,602	0,127	106
	3,4923	6 —	4,780	0,136	113,3

Les résultats nous ont un peu surprise. Nous avions entrepris ces expériences, en effet, avec l'idée préconçue que l'altération des organes devait commencer très peu de temps après la mort de l'animal en s'accompagnant très rapidement de modifications profondes dans les équilibres chimiques cellulaires. Or, bien que les tissus fussent conservés à la température du laboratoire, sans précautions spéciales, dans la plupart des cas, *après quatre heures*, les résultats des dosages étaient encore satisfaisants.

Le tissu musculaire, malgré le chiffre un peu aberrant obtenu sur le second fragment (conservé quatre heures) semble, en ce qui concerne les lipides, particulièrement résistant à l'altération. On voit en effet que les dosages pratiqués, après 5, 6, 12, 24 heures de conservation, donnent des chiffres qui ne s'écartent guère de plus de cinq pour cent du chiffre initial correspondant au tissu immédiatement traité. Le résultat est identique pour le cœur, ainsi qu'on pouvait s'y attendre, puisqu'il s'agit, ici encore d'un muscle.

Les variations sont plus marquées, au contraire, lorsqu'il s'agit d'autres tissus, et, au-delà de quatre heures de conservation à la température du laboratoire, elles commencent à être sensibles.

Le phosphore lipidique du cerveau n'a pas varié après 5 heures. Il a baissé de 4 % après 6 heures et de 10 % après 12 heures.

Le phosphore lipidique du rein a varié en sens inverse : il a augmenté de 6 % après 4 heures et de 13,3 % après six heures.

Dans le poumon, on n'observe aucune variation au bout de 4 heures. Le dosage pratiqué sur le tissu conservé pendant six heures a donné un chiffre tout à fait aberrant.

Ceux de ces résultats qui témoignaient d'une augmentation — au moins temporaire — du phosphore lipidique

après un certain nombre d'heures de conservation n'ont pas été sans attirer notre attention ; nous n'avons pas poursuivi, pour l'instant, l'examen du phénomène.

Il importe du reste de remarquer que, si le dosage du phosphore est une opération très précise, l'extraction des lipides comporte des manipulations si nombreuses et si compliquées que, malgré les plus grandes précautions, l'approximation des résultats peut varier, selon les cas, de zéro à cinq ou six pour cent.

En outre, quoique nous ayons cherché à obtenir des échantillons aussi homogènes que possible, cette condition est assez difficile à réaliser — en particulier pour le poumon.

Quoiqu'il en soit, et c'est ce qu'il nous importait de constater, les chiffres obtenus pour le phosphore lipidique, varient entre des limites peu éloignées après quatre heures de conservation d'un tissu — même si cette conservation n'a pas été entourée de précautions spéciales.

Au-delà de quatre heures, des variations commencent à se manifester, au moins dans certains tissus. Mais nous ne voulons tirer de nos chiffres aucune conclusion quant à l'importance et au sens de ces variations. Cette question, pour intéressante qu'elle soit, nous aurait écartée de notre sujet. Nous avons la certitude toutefois que l'importance des variations est en rapport étroit avec la nature du tissu. Dans le muscle, par exemple, la teneur en phospholipides, ne se modifie pas très rapidement tandis qu'elle se modifie beaucoup plus vite dans les viscères. Parmi ceux-ci, certains sont plus altérables que d'autres : au cours des expériences que nous avons faites, le pancréas s'est montré particulièrement sensible à ces altérations.

Les viscères des animaux à sang froid sont plus sensibles que les viscères des animaux à sang chaud. La température du laboratoire est en effet pour les premiers relativement élevée. Nous avons observé que les viscères des poissons, par exemple, s'altèrent très rapidement.

Stabilisation de l'organe par l'alcool bouillant.

L'organe exsangue, préalablement découpé, est projeté par petits fragments dans 15 fois son poids au minimum d'alcool à 95° bouillant. L'ébullition est maintenue pendant une durée de dix minutes.

Puis on laisse le tissu au sein du liquide pendant 12 à 24 heures.

Il s'y déshydrate peu à peu, en prenant une consistance élastique qui en facilite beaucoup le pulpage.

Ce pulpage est réalisé au sein même de l'alcool, soit par découpage très soigneux avec des ciseaux courbes très fins, soit à l'aide d'un petit broyeur de bronze, imaginé par M. JAVILLIER et M. ALLAIRE.

Cette pulpe est séparée par filtration de l'alcool de macération où sont déjà passés en dissolution une partie des lipides. Cet alcool est conservé et sera réuni à l'alcool d'épuisement ultérieurement obtenu.

Quoiqu'on puisse sans inconvénient conserver le tissu pendant un certain temps au sein du premier alcool, il y a intérêt à ne pas prolonger exagérément ce contact. Nous opérons presque toujours la filtration le lendemain de la fixation et achevons immédiatement l'extraction des lipides.

Ce procédé de fixation par l'alcool bouillant présente sur tous les autres procédés un certain nombre d'avantages incontestables :

Il assure la destruction totale et quasi-instantanée des agents diastasiques et microbiens. En outre, le tissu entre immédiatement en contact avec un solvant des lipides, dont l'extraction commence à l'instant même.

Son application est très commode pour tous les organes des petits animaux, dont la fixation, étant donné leur faible poids, n'exige pas une forte quantité d'alcool. Quand

les organes sont très petits, on peut, sans difficulté, fixer dans un seul récipient, plusieurs organes identiques à la fois. Nous l'avons employé systématiquement pour tous les organes des petits animaux tués au laboratoire (poisson, lapin, coq, grenouille).

Le procédé est moins commodément applicable lorsque l'on doit fixer une quantité importante de tissu, par exemple, un foie de bœuf ou quelque autre organe volumineux. Pour employer le procédé de fixation à l'alcool bouillant, il eut fallu se contenter de fixer une parcelle plus ou moins importante de l'organe, et les chiffres obtenus dans la suite, n'eussent plus présenté le même intérêt.

Utilisation de poudres d'organes séchés dans le vide à 0°.

Il s'est trouvé d'ailleurs que, pour les organes des gros animaux (cheval, bœuf, etc.), nous avons pu disposer d'un autre matériel d'études. Nous avons disposé de poudres d'organes préparées *dans le vide à 0°*, avec des organes prélevés dans les meilleures conditions de rapidité.

Nous recevions, en effet, au laboratoire, en vue, du reste, de certaines études de technique analytique, des poudres d'organes obtenues dans l'usine de médicaments opothérapiques que dirigent M. CHOAY et ses fils. De ces poudres, les unes étaient faites à notre intention, les autres provenaient de la fabrication courante : les unes et les autres aussi minutieusement fabriquées. Elles ont constitué pour nous une excellente matière première.

Mais disons d'abord comment elles sont obtenues :

Les organes exsangues, apportés de l'abattoir dans des récipients refroidis, sont immédiatement nettoyés et réduits en pulpe dans un broyeur approprié.

La pulpe, étalée en couches minces, est introduite dans des cylindres métalliques où l'on peut obtenir en fort peu

de temps un vide profond. Ces cylindres sont mis en communication avec des récipients contenant de l'acide sulfurique concentré, qui absorbe rapidement la vapeur d'eau grâce à un renouvellement mécanique continu de sa surface.

L'évaporation très rapide provoque une véritable ébullition à froid qui gonfle la masse et la refroidit rapidement. En quelques instants, la température s'abaisse au-dessous de zéro, la pulpe se congèle. La majeure partie de l'eau s'élimine très vite et la dessiccation s'achève dans ces conditions en moins de douze heures.

On obtient ainsi un gâteau spongieux parfaitement anhydre et friable, que l'on pulvérise en poudre impalpable.

Les poudres d'organes ainsi préparées, introduites dans des flacons exsiccateurs, nous étaient immédiatement envoyées avec le poids des tissus frais correspondants. Ce sont elles qui ont servi à beaucoup de nos dosages.

Ce procédé d'obtention de notre matière première ne présente pas les mêmes garanties que le procédé de fixation par l'alcool à 95° bouillant. Ici, il n'y a pas, à vrai dire, de « stabilisation ». Le procédé ne détruit pas les diastases, ni les agents microbiens. Il ne fait que réaliser un état de déshydratation totale qui met les diastases et les agents microbiens dans l'impossibilité d'agir. Cette déshydratation n'étant pas instantanée, l'on peut craindre que les ferments n'aient le temps d'agir avant qu'elle ne soit achevée.

La préparation du tissu comporte en outre un pulpage mécanique qui chauffe légèrement la masse, met en contact les ferments et les substances fermentescibles, et favorise l'oxydation des substances qui y sont sensibles, tout particulièrement des lipides.

C'est ainsi que HEUBNER [17], qui, après avoir pulvé un

tissu, le desséchait au *bain-marie* (ce qui demandait parfois *plusieurs jours*), obtenait des résultats mauvais.

En réalité, dans le cas qui nous occupe, ces inconvénients sont un peu théoriques. La rapidité des opérations, le vide très poussé dans lequel se fait la dessiccation, la température très basse à laquelle elle s'accomplit (celle-ci s'abaisse à -10° et ne remonte qu'à peine au-dessus de 0°) annihilent les dangers précités.

Nous avons pu nous rendre compte que les poudres préparées dans d'aussi strictes conditions représentent véritablement, dans la plus large mesure, les organes frais et que les constituants que nous y voulions rechercher n'étaient ni altérés, ni modifiés dans leurs proportions.

Il faut cependant faire une importante réserve. Ceci n'est vrai qu'autant que la déshydratation de la poudre est parfaite. Dès que les poudres, fort hygroscopiques, fixent de l'humidité, les phénomènes diastasiques reprennent leur cours. Il est donc absolument indispensable de pratiquer le dosage sur ces poudres dans le plus bref délai. Même lorsqu'elles sont conservées dans des flacons spéciaux il est aisé de constater qu'elles fixent toujours une certaine quantité d'eau. Lors même qu'elles n'acquièrent après une longue conservation aucune odeur désagréable elles peuvent avoir subi de profondes modifications. Les chiffres suivants (voir page 86) qui relatent des analyses faites sur des poudres à la vérité déjà très anciennes (un an), et comptant parmi les plus altérables, ne laissent aucun doute à cet égard.

On constate, et l'expérience que nous relatons au sujet du pancréas est particulièrement typique, que les lipides sont devenus en partie insolubles dans leurs solvants habituels.

Tandis que la poudre de pancréas avait donné au moment de sa préparation (pour cent grammes de poudre sèche) 0 gr.,469 de phosphore lipidique (phosphore extrait

par l'alcool et soluble dans l'éther), elle ne cède plus, au bout d'un an, que 0 gr.,334 de phosphore soluble dans l'alcool. Ce phosphore est devenu presque totalement insoluble dans l'éther, qui n'en enlève que 0 gr. 035. Tout le reste, se trouve contenu dans le résidu abondant, insoluble dans l'éther.

Poudre (Porc)	Phosphore lipidique % de matière sèche		Variation %
	Poudre fraichement préparée	Poudre conservée un an	
	g.	g.	
Tissu orchitique	0,453	0,320	— 30 %
Pancréas	0,469	0,035	— 92 %
Rein	0,353	0,212	— 40 %
Foie	0,459	0,187	— 59 %

La différence entre les deux dosages révèle un déficit de 92 % dans le phosphore éthéro-soluble

Moins importante dans les autres poudres que nous avons essayées, la diminution s'échelonne cependant entre 30 et 60 %: Mais nous tenons à souligner qu'il s'agit là de poudres vieilles et que rien de tel ne s'observe lorsque la siccité est maintenue et la conservation réduite à une durée de quelques jours ou semaines.

Il suffit, en somme, d'être averti des dangers qu'offre, pour le but envisagé, la méthode dont nous venons de parler, pour les éviter. L'on ne voit plus dès lors que les avantages qu'elle procure : facilité de travailler sur des organes même volumineux et, mieux encore, sur des poudres provenant d'un assez grand nombre d'organes

pour que les résultats analytiques représentent d'excellentes moyennes.

Les précautions à prendre se réduisent donc pour l'analyste à ceci, les conditions de préparation étant par ailleurs bien surveillées :

Faire les analyses dès la réception, ou peu de jours après la réception des échantillons de poudres sèches. Déterminer à chaque fois la teneur en eau, petite mais appréciable, et en tenir compte dans le calcul des résultats.

II. — Extraction des lipides totaux.

Cette extraction présente certaines difficultés. Nous avons dit que les lipides ne représentent pas une entité chimique définie, qu'ils constituent un groupe hétérogène et que les conditions de leur évaluation exacte sont difficiles à préciser. De plus ce sont des corps très altérables. Or, de nombreuses manipulations sont nécessaires pour les séparer des impuretés qui les suivent dans leurs solvants.

Nous nous sommes arrêtée pour extraire ces phosphatides, à la technique de KUMAGAWA et SUTO [32] [33] employée par MAYER et SCHAEFFER [49] et perfectionnée par M. LEMELAND [40], [41], [42].

Au cours de notre exposé nous indiquerons quelques modifications de détails que nous y avons apportées.

La méthode est délicate et demande à être appliquée avec beaucoup de soins : la quantité et la qualité des phosphatides extraits des tissus dépendent des procédés d'extraction employés. A ce point de vue, il est indispensable de signaler que les techniques que nous avons suivies sont encore loin d'être parfaites. Elles peuvent être l'objet de critiques, comme nous le verrons, sur plusieurs points. Bien qu'étant, dans une certaine mesure, conventionnelles, elles nous ont paru, de toutes, les meilleures.

I. — Extraction quantitative des phosphatides du tissu.

Cette extraction constitue la première phase de l'opération. L'ensemble des phosphatides, de même que le cholestérol et les graisses, existe dans les tissus sous forme de combinaisons complexes avec les albumines, combinaisons

qu'il est nécessaire de détruire pour obtenir l'extraction complète. L'alcool parait, à ce point de vue, agir parfaitement (LAUDAT) [35].

Cette extraction, étudiée par de nombreux expérimentateurs, s'effectue donc au moyen de l'alcool à 95° dans un appareil de KUMAGAWA où la matière et le liquide qui la lixivie se trouvent plongés dans la vapeur du solvant bouillant. La quantité de tissu introduite dans l'extracteur varie suivant la teneur présumée en phosphore.

On poursuit l'extraction par l'alcool à 95° pendant huit heures, en réglant la marche de telle sorte qu'il se fasse à peu près vingt siphonnages à l'heure.

On obtient ainsi un extrait alcoolique A contenant la presque totalité des lipides.

Il convient ici de se poser deux questions :

a) *Cette extraction est elle quantitative ?* — Le tissu garde toujours une petite quantité de lipides non extraite par l'alcool. En supposant que cette fraction non extraite soit phosphorée, MM. MAYER et SCHAEFFER ont montré que la perte subie de ce fait n'excède pas 2 % On l'atténue encore ou même on la supprime en faisant suivre l'extraction alcoolique d'une courte extraction à l'éther. C'est ce que nous avons fait dans un grand nombre de cas.

b) On pourrait craindre une hydrolyse légère des phosphatides à la température de l'alcool bouillant. Mais ce fait n'est pas démontré, et, s'il se produisait, cela serait sans aucune importance puisque l'acide glycéro-phosphorique, d'après Mlle LEBRETON [38], passe en solution dans l'éther avec les autres phosphatides non attaqués au moment de la reprise par ce solvant (1).

(1) Mlle LEBRETON a montré que le phosphore lipidique total éthero-soluble contient des composés phosphorés autres que les phosphatides. Ces composés semblent être des combinaisons de l'acide glycéro-phosphorique, mais elle a montré que ces composés ne se formaient pas au cours de l'extraction prolongée des phosphatides des tissus.

Donc, pour le moment, nous pouvons admettre qu'il n'y a pas d'erreur sensible de ce côté là.

II. — Evaporation de l'extrait alcoolique.

Le liquide alcoolique A est réuni au liquide alcoolique de durcissement (1) dans un ballon à fond rond et de grande capacité, 1 litre 1/2. L'extrait alcoolique est concentré par distillation sous pression réduite (20 mm. au plus) sur un bain marie.

On sèche de la façon suivante :

Quand il ne reste plus dans le ballon que de l'alcool très étendu, et que de la mousse se produit, on introduit dans le ballon par le tube à robinet disposé à cet effet, 10 cm³ d'alcool absolu. On maintient le vide et on concentre jusqu'à 4 à 5 cm³. On fait une deuxième affusion d'alcool absolu, on distille ; puis on introduit encore 10 cm³ d'alcool absolu avec une pipette en rinçant soigneusement le col et les parois du ballon et aussi le tube coudé par lequel s'échappent les vapeurs d'alcool.

On pousse le vide jusqu'à 10 mm. ou 15 mm. de mercure et à ce moment seulement le ballon qui jusque là reposait sur les bords du bain-marie est plongé dans l'eau bouillante et agité constamment. En deux ou trois minutes, on obtient un résidu très sec.

Ce temps de séchage constitue une opération très délicate. Il a une importance capitale pour l'exactitude de la méthode pour les raisons suivantes :

1° Les lipides phosphorés, chauffés à 100° en présence d'eau deviennent insolubles dans leurs solvants ordinaires. Aussi, faut-il laisser le ballon le moins longtemps possible en contact avec l'eau bouillante.

2° Le résidu doit être parfaitement sec. La présence

(1) Ce liquide alcoolique de durcissement est celui dans lequel on a recueilli et conservé quelques heures le fragment de tissu frais.

d'eau permettrait la dissolution dans les solvants des phosphatides d'autres composés organiques ou inorganiques du phosphore qui ont pu être entraînés au cours de l'extraction.

III. — Isolement des phosphatides.

L'extrait alcoolique déshydraté contient, outre les phosphatides, une petite quantité de composés phosphorés organiques ou inorganiques qu'il convient d'éliminer. C'est là le point le plus délicat de la méthode, celui qui soulève le plus de critiques et sur lequel les auteurs ne sont pas d'accord.

En principe, on isolera les phosphatides en traitant le résidu alcoolique par un solvant qui entraînera tous les phosphatides et eux seulement.

Le choix de ce solvant soulève des difficultés.

Les meilleurs solvants des phosphatides sont :

- l'éther,
- le benzène,
- le chloroforme,
- le tétrachlorure de carbone.

Nous éliminerons tout de suite ces deux derniers qui ne peuvent permettre la centrifugation des impuretés par suite de leur densité élevée.

La méthode classique employée par MM MAYER et SCHAEFFER consiste à traiter le résidu alcoolique déshydraté par l'éther anhydre au bain-marie. On ne compte comme lipides que ce qui passe en solution étherée. Or, il existe des phosphatides insolubles dans l'éther : la sphingomyéline est, à l'état pur, insoluble dans l'éther, soluble au contraire dans le benzène. Bien que la présence d'autres phosphatides modifie les conditions de solubilité de la sphingomyéline, le traitement à l'éther est insuffisant : il peut ne pas entraîner tous les phosphatides. Ceci se produit pour le tissu nerveux, M. LEMELAND l'a montré [42].

« Dans ce cas, écrit-il, la reprise par l'éther, aboutit à un véritable fractionnement des phosphatides, une partie de l'extrait alcoolique, qu'il est impossible de ne pas compter comme lipidique, ne se dissolvant pas dans l'éther et se dissolvant par contre fort bien dans le benzène ». M. LEMELAND a montré que le résidu d'extraction éthéré contient encore 30 % de phosphore lipidique total précipitable par l'acétone.

Nous avons fait nous-mêmes des essais résumés dans le tableau ci-dessous :

Moelle épinière de porc		
	Mode d'extraction	P. lipidique % de tissu sec
1 ^{er} essai...	Extraction éthérée	1,079
	Extraction benzénique	0,213
	Résidu insoluble	0,011
2 ^e essai...	Extraction benzénique	1,30
	Résidu insoluble	Traces indosables

Dans le premier essai : l'extrait alcoolique est soumis à trois épuisements éthérés. Ce solvant semble attaquer les lipides avec formation d'une substance blanche laiteuse difficile à centrifuger. La partie insoluble est reprise par du benzène.

Deuxième essai : l'extrait alcoolique est traité directement par le benzène. La dissolution se fait presque instantanément (pas du tout de formation de substance blanche).

Nous avons vu que l'observation de M. LEMELAND ne s'applique pas seulement au tissu nerveux, elle s'étend à d'autres organes, notamment au cœur et au rein, mais la fraction de lipides insolubles dans l'éther est alors beaucoup plus petite.

M. GRIGAUT [14] a montré qu'il existe dans le sérum sanguin, tant à l'état normal qu'à l'état pathologique, des phosphatides insolubles dans l'éther. Leur proportion n'est pas considérable par rapport à la fraction des phosphatides solubles et peut être fixée au voisinage de 0 g., 10 par litre de sérum humain normal. On ne doit pas moins tenir compte de ce fait dans le dosage du phosphore lipidique total.

Ces diverses considérations nous ont conduite à faire une reprise par l'éther suivie d'une reprise par le benzène.

Pour le tissu nerveux nous employons directement et uniquement le benzène. Cette reprise par le benzène est sans doute inutile pour certains tissus, peut-être même parfois critiquable, comme nous le verrons plus loin, mais, comme nous faisons des dosages en série, il était indispensable d'opérer toujours dans les mêmes conditions. Nous nous sommes donc arrêtée à l'emploi de ces deux solvants et nous avons dosé le phosphore éthéro-benzénosoluble.

TECHNIQUE. — Le résidu alcoolique déshydraté est traité de la façon suivante :

On introduit dans le ballon 25 cm³ d'éther anhydre (1).

On chauffe cinq minutes au bain-marie, le ballon étant

(1) Nous employons l'éther pur du commerce que nous purifions et desséchons de la façon suivante :

On agite l'éther avec 1/6 de son volume d'acide sulfurique dilué au demi. On laisse décantier. On met l'éther quelques heures sur chlorure de calcium, puis sur sodium et on le distille sur sodium.

mis en communication avec un réfrigérant à reflux (1). On laisse déposer. On décante l'éther dans un tube à centrifuger et on centrifuge à 4.000 tours pendant 20 minutes. Le résidu qui se trouve dans le ballon est épuisé une seconde fois par 25 cm³ d'éther dans les mêmes conditions. L'éther du deuxième épuisement est à son tour centrifugé (2). Les liqueurs éthérées limpides sont décantées dans un matras de KJELDAHL.

Les deux culots de centrifugation sont introduits à nouveau dans le ballon en lavant soigneusement les tubes avec du benzène anhydre (3). On emploie en tout 25 cm³ de benzène et on fait avec ce solvant un troisième épuisement de 5 minutes.

On laisse déposer, on décante, on lave les parois du ballon avec une pipette de benzène, on centrifuge.

Les liqueurs éthérées qui se trouvent dans le matras sont évaporées au bain-marie ; sur le résidu on verse le benzène et on évapore à nouveau en s'aidant d'un léger vide.

Le résidu obtenu représente les lipides totaux et le dosage du phosphore qu'il contient après minéralisation nous donnera le phosphore lipidique.

CRITIQUE DE LA MÉTHODE. — 1° La technique que nous avons suivie pendant cette troisième phase de l'extraction diffère de celle de M. LEMELAND par l'emploi systématique du benzène dans le troisième épuisement (4).

M. LEMELAND observe que le benzène peut dissoudre

(1) On évitera, au cours de ces manipulations, de laisser le ballon non bouché et le réfrigérant séparé du ballon au-dessus du bain-marie. Toute condensation de vapeur d'eau dans le ballon ou sur la partie du réfrigérant qui pénètre dans le ballon viendrait fausser le dosage.

(2) M. LEMELAND centrifuge les trois liqueurs éthérées réunies. Nous préférons notre technique qui permet d'épuiser à nouveau les culots de centrifugation par le solvant.

(3) Benzène desséché sur sodium.

(4) M. LEMELAND fait, en effet, trois épuisements éthérés.

des substances phosphorées qui ne sont pas précipitables par l'acétone et qui en raison de ce fait ne devraient pas être considérées comme lipidiques. Mais l'insolubilité stricte dans l'acétone ne nous a pas paru un caractère qui dût nécessairement entrer dans la définition d'un phosphatide, bien qu'effectivement la majorité des phosphatides connus soit précipitable par l'acétone. Nous ne nous sommes pas arrêtée à cette remarque et nous avons systématiquement repris par l'éther et le benzène. L'essentiel, nous l'avons déjà dit, était d'opérer systématiquement de façon identique.

2^e D'après MAC LEAN et Mlle LEBRETON, il existe des impuretés phosphorées dans le phosphore lipidique total éthéro soluble et par suite éthéro-benzène-soluble. Ces impuretés phosphoriques seraient des combinaisons de l'acide glycéro-phosphorique représentant des termes intermédiaires entre cet acide et les phosphatides. Ces composés seraient, au moins dans certaines conditions physiologiques et pathologiques, en quantité suffisante pour fausser le dosage du phosphore lipidique.

Il faudrait, d'après Mlle LEBRETON, précipiter les phosphatides de l'extrait éthéré par de l'acétone en présence de chlorure de magnésium ; le précipité acétonique serait alors purifié selon le procédé de MAC LEAN, pour le débarrasser des impuretés phosphorées qu'il contient.

Mais la technique de Mlle LEBRETON est longue, inapplicable aux dosages en série et aux petites quantités dont nous disposions le plus souvent. De plus cette méthode, très bonne pour une étude sur la chimie des phosphatides ne présente plus le même intérêt pour le travail présent destiné à l'établissement de rapports phosphorés.

Nous avons donc conservé la technique, un peu conventionnelle si l'on veut, d'extraction du phosphore lipidique

que nous avons décrite. Désireuse d'aboutir à l'établissement de rapports, nous avons toujours opéré dans les mêmes conditions et dosé ainsi un groupe de substances liées entre elles par leurs propriétés chimiques et leur rôle physiologique.

Nous appellerons donc phosphore lipidique le phosphore éthéro-benzéno soluble.

IV. — Minéralisation des phosphatides et dosage du phosphore.

Le résidu obtenu après distillation totale de l'éther et du benzène (1) est laissé en contact pendant 12 heures avec 10 cm³ d'acide nitrique concentré. Ce temps prend ici une importance toute particulière et facilite grandement l'action ultérieure du mélange sulfo-nitrique.

Après addition de 2 cm³ d'acide sulfurique concentré la destruction est conduite avec les soins que nous avons précédemment indiqués. La solution sulfurique incolore est étendue d'eau, débarrassée de l'acide nitrique par ébullition, amenée à un volume déterminé.

On procède au dosage par la technique précédemment décrite.

(1) L'élimination complète de ces solvants est très importante pour la suite des opérations.

CHAPITRE V.

Résultats du dosage du phosphore lipidique dans les organes de divers Vertébrés.

La plupart des faits concernant le dosage du phosphore lipidique dans les tissus animaux ont été observés et exposés par MM. MAYER et SCHAEFFER.

En nous reportant au long mémoire publié par ces savants en 1913, nous trouvons les conclusions suivantes :

a) *Phosphore lipidique pour cent de tissu sec.*

1° La teneur en phosphore lipidique est constante dans une espèce donnée pour un organe donné.

2° La teneur en phosphore lipidique ne varie pas d'une façon nette pour un même organe dans des espèces différentes. La teneur des organes en phosphore lié aux lipides ne semble donc pas caractéristique de l'espèce.

b) *Résultats rapportés au tissu frais.*

Pour un même organe, la teneur en phosphore lipidique est la même chez les divers animaux examinés. Elle est caractéristique de l'organe.

Les différents types de muscles présentent des teneurs en phosphore différentes.

Nous rappelons ci-dessous les chiffres apportés par MM. MAYER et SCHAEFFER à l'appui de ces conclusions :

Teneur de 100 gr. de tissu frais en phosphore lipidique total
(exprimée en grammes de phosphore).

	Foie	Rein	Poumon	Muscle
Chien	0,145	0,125	0,099	0,053
Lapin	0,142	0,122	0,095	0,039
Cobaye.	0,148	0,124	0,135	0,053
Pigeon	0,143	0,157	0,107	0,093
Anguille.....	0,127	0,120	»	0,036

et MM. MAYER et SCHAEFFER ajoutent :

« Ce fait montre que le phosphore lipidique est bien une constante cellulaire et que la constance des lipides phosphorés doit être d'une importance capitale pour la vie cellulaire. »

Nous pouvons dire, dès maintenant que, dans l'ensemble, nos résultats sont en accord avec ces conclusions. Nous donnons, dans le Tableau XIII, l'ensemble des chiffres que nous avons obtenus. Ici encore, nous considérerons d'abord les résultats rapportés au tissu frais.

TABLEAU XIII.
Phosphore lipidique.

		Extrait sec	Eau	Phosphore lipidique	
		‰	‰	‰ de tissu sec	‰ de tissu frais
<i>Moelle épinière.....</i>	Cheval...	36,2	63,8	1,432	0,518
	Porc.....	33,0	67,0	1,420	0,468
	Bœuf....	34,3	65,7	1,452	0,498
<i>Substance blanche cérébrale.....</i>	Cheval...	24,5	75,5	1,118	0,273
	Porc.....	22,2	77,8	1,090	0,241
	Mouton..	22,8	77,2	1,160	0,264
<i>Substance grise cérébrale.....</i>	Cheval ..	23,0	77,0	1,075	0,247
	Porc.....	22,0	78,0	0,990	0,217
	Mouton..	24,0	76,0	0,849	0,204
<i>Substance cérébrale (grise + blanche) ..</i>	Cheval ..	24,0	75,0	1,140	0,273
	Bœuf....	23,0	77,0	1,083	0,249
	Lapin ...	27,43	72,57	0,982	0,269
	Coq.....	22,2	77,8	0,833	0,185
	Gardon..	21,4	78,6	0,777	0,166
<i>Foie.....</i>	Cheval...	31,2	68,8	0,475	0,148
	Porc ...	30,0	70,0	0,580	0,174
	Bœuf....	33,0	67,0	0,660	0,217
	Veau ...	28,2	71,8	0,392	0,110
	Mouton..	33,7	66,3	0,590	0,199
	Lapin ...	28,6	71,4	0,604	0,172
	Grenouille	25,0	75,0	0,250	0,062
	Gardon..	23,05	76,95	0,357	0,082
<i>Surrénale.....</i>	Coq.....	27,9	72,1	0,461	0,128
	Cheval ..	25,0	75,0	0,611	0,152
	Bœuf....	23,0	77,0	0,587	0,135
	Veau....	22,2	74,8	0,639	0,141
<i>Hypophyse.....</i>	Mouton..	20,0	80,0	0,765	0,153
	Cheval ..	22,3	77,7	0,446	0,099
	Bœuf....	21,3	78,7	0,426	0,090
	Mouton..	25,0	75,0	0,400	0,100
<i>Testicule.....</i>	Cheval ..	15,6	84,4	0,526	0,082
	Porc	18,0	82,0	0,590	0,106
	Taureau.	12,0	88,0	0,482	0,056
	Bélier...	22,3	73,7	0,443	0,098
	Coq.....	20,0	80,0	0,368	0,073

TABLEAU XIII (Suite).

		Extrait sec	Eau	Phosphore lipidique	
		‰	‰	‰ de tissu sec	‰ de tissu frais
<i>Pancréas</i>	Cheval ..	25,2	74,8	0,413	0,104
	Porc.....	27,0	73,0	0,469	0,126
	Bœuf....	26,3	73,7	0,457	0,120
<i>Poumon</i>	Cheval ..	20,5	79,5	0,399	0,081
	Porc....	22,9	77,1	0,422	0,096
	Bœuf....	20,0	80,0	0,414	0,082
	Veau....	20,0	80,0	0,378	0,075
	Mouton..	21,1	78,9	0,589	0,082
				0,630	0,139
	Lapin ...	22,05	77,95	0,678	0,148
				0,812	0,190
	Coq.....	26,29	73,71	0,313	0,082
<i>Cœur</i>	Cheval ..	24,28	75,72	0,382	0,092
	Porc.....	22,2	77,8	0,397	0,088
	Bœuf....	23,0	77,0	0,349-0,370	0,080-0,085
	Veau....	21,0	79,0	0,438	0,091
<i>Myocarde (cœur)</i>	Mouton..	21,2	78,8	0,392	0,083
	Lapin ...	22,9	77,1	0,391	0,090
	Coq.....	21,6	78,4	0,420	0,090
	Gardon..	18,5	81,5	dosage manqué	dosage manqué
<i>Rein</i>	Cheval...	20,4	79,6	0,435	0,088
	Porc....	20,0	80,0	0,353	0,070
	Bœuf....	20,2	79,8	0,391	0,078
	Veau ...	20,0	80,0		
	Mouton..	20,9	79,1	0,400	0,083
	Lapin ...	23,05	76,95	0,573	0,132
	Gardon..	24,09	75,91	0,568	0,128
				0,220	0,052
<i>Rate</i>	Porc....	23,0	77,0	0,302	0,069
	Bœuf....	22,7	77,3	0,340	0,077
	Veau....	22,1	77,9	0,387	0,085
	Mouton..	22,6	77,4	0,298	0,067
	Lapin ...	22,0	78,0	0,502	0,110
<i>Placenta</i>	Vache...	17,0	83,0	0,290	0,050

TABLEAU XIII (Suite et fin).

		Extrait sec 0/0	Eau 0/0	Phosphore lipidique	
				0/0 de tissu sec	0/0 de tissu frais
<i>Thymus</i>	Veau....	24,0	76,0	0,177	0,042
	Cheval ..	27,0	73,0	0,174	0,046
	Porc	24,9	75,1	0,116	0,029
	Bœuf....	25,2	74,8	0,153	0,038
<i>Muscle</i>	Veau....	24,7	75,3	0,159	0,038
	Mouton..	25,0	75,0	0,165	0,041
	Lapin ...	25,07	74,93	0,148	0,037
	Grenouille	23,0	77,0	0,125	0,028
	Gardon .	20,6	79,4	0,126	0,026
	Coq.....	22,6	77,4	0,123	0,028
<i>Ovaire</i>	Jument..	16,5	83,5	0,231	0,038
	Truie ...	18,6	81,4	0,400	0,074
	Vache....	13,0	87,0	0,250	0,032
	Brebis...	18,0	82,0	0,268	0,048
<i>Ovaire + ovules</i>	Grenouille	20,0	80,0	0,298	0,059
<i>Appareil ♀</i>	Gardon..	32,33	67,7	0,208	0,067
<i>Ovaire</i>	Lapin ...	26,8	73,2	0,220	0,059
<i>Thyroïde</i>	Cheval ..	25,0	75,0	0,132	0,033
	Porc	28,0	72,0	0,124	0,034
	Bœuf....	27,3	72,7	0,163	0,044
<i>Mamelle</i>	Jument..	16,6	83,4	0,193	0,032
	Vache....	23,0	77,0	0,105	0,024
<i>Prostate</i>	Cheval...	20,0	80,0	0,123	0,024

Si nous procédons pour l'interprétation de ces chiffres comme nous l'avons fait précédemment avec les chiffres obtenus pour le phosphore total, nous constatons les faits suivants :

1° *Les organes d'un animal donné renferment des quantités très différentes de phosphore lipidique et peu-*

vent être rangés, d'après leur richesse en celui-ci, dans un ordre d'une certaine constance.

Nous obtenons pour les divers animaux que nous avons étudiés, les classements suivants :

Bœuf.		Veau.	
Moelle épinière	0,498	Surrénale	0,141
Subst. cérébr. totale...	0,249	Foie	0,110
Foie	0,217	Cœur	0,091
Surrénale	0,135	Rate	0,085
Pancréas	0,120	Ovaire	0,048
Hypophyse	0,090	Thymus	0,042
Cœur	0,085	Muscle	0,038
Poumon	0,082		
Rein	0,078		
Rate	0,077		
Testicule	0,056		
Thyroïde	0,044		
Muscle	0,038		
Ovaire	0,032		
Mamelle.....	0,032		
Cheval.		Porc.	
Moelle épinière	0,518	Moelle épinière	0,468
Subst. blanche céréb..	0,273	Subst. blanche céréb..	0,241
— céréb. totale....	0,273	— grise — ..	0,217
— grise cérébrale .	0,247	Foie	0,174
Surrénale ...	0,152	Pancréas	0,126
Foie ...	0,148	Testicule	0,106
Pancréas	0,104	Poumon	0,096
Hypophyse	0,099	Cœur	0,088
Cœur.....	0,092	Rein	0,070
Rein	0,088	Ovaire....	0,074
Testicule	0,082	Rate	0,069
Poumon	0,081	Thyroïde	0,034
Rate	0,055	Muscle	0,029
Muscle	0,046		
Ovaire	0,038		
Thyroïde	0,033		
Mamelle.....	0,032		
		Lapin.	
		Substance cérébrale...	0,269
		Foie.....	0,172
		Poumon	0,139
		Rein	0,128
		Rate	0,110
		Cœur	0,090
		Ovaire	0,059
		Muscle	0,037

Mouton.		Gardon.	
Subst. blanche céréb..	0,264	Substance cérébrale...	0,166
— grise cérébrale.	0,204	Foie	0,082
Foie	0,199	Appareil génital.....	0,067
Surrénale	0,153	Cœur (dosage manqué).	
Testicule	0,098	Muscle	0,026
Cœur	0,083		
Rein.....	0,083		
Poumon.....	0,082		
Rate	0,067		
Ovaire	0,048		
Muscle.....	0,041		
Grenouille.		Coq.	
Foie... ..	0,062	Substance cérébrale...	0,185
Appareil génital....	0,059	Foie	0,128
Muscle	0,028	Cœur	0,090
		Poumon	0,082
		Testicule.....	0,073
		Muscle	0,028

On trouve, ici encore, en comparant ces listes, une régularité assez marquée. Si l'on tient compte du fait que quelques organes, se serrant de fort près, ont parfois tendance à chevaucher, on constate qu'avec régularité les mêmes organes ou groupes d'organes se retrouvent aux mêmes places.

C'est ainsi que toutes les parties du système nerveux occupent indiscutablement la tête, dans tous les cas, sans exception. Cette supériorité est en général très marquée par rapport aux organes qui suivent immédiatement. Elle l'est tout particulièrement pour la moelle épinière, qui, dans toutes les espèces considérées, se montre près de deux fois plus riche en phosphore lipidique que les autres parties de la substance nerveuse. Certains organes (thymus, foie, pancréas) dépassaient par leur richesse en phosphore total certaines parties de tissu nerveux. Il n'en est plus de même pour le phosphore lipidique. Le tissu nerveux, dans toutes les espèces animales, se différencie de la façon la plus nette de tous les autres tissus par sa très grande richesse en phosphore lipidique,

Inversement, la rate et surtout le *thymus*, qui se plaçaient dans un très bon rang par leur phosphore total, se retrouvent presque toujours en queue de liste pour leur phosphore lipidique.

Ces réserves faites, l'ordre de classement des organes n'est pas extrêmement différent chez un animal donné, que l'on considère le phosphore total ou le phosphore lipidique.

Chez le porc, par exemple, les listes s'établissent comme suit :

<i>Phosphore total.</i>	<i>Phosphore lipidique.</i>
Moelle épinière.	Moelle épinière.
Pancréas.	Substance blanche.
Foie.	Substance grise.
Substance grise.	Foie.
Substance blanche.	Pancréas.
Rate.	Testicule.
Testicule.	Poumon.
Poumon.	Cœur.
Rein.	Rein.
Estomac.	Ovaire.
Cœur.	Rate.
Muscle.	Thyroïde.
Ovaire.	Muscle.
Thyroïde.	

2° Si nous établissons les moyennes des taux de phosphore lipidique pour cent de tissu frais dans chaque organe chez des espèces voisines, nous obtenons le tableau suivant (Tableau XIV).

TABLEAU XIV.

		Chiffres trouvés	Moyenne	Ecart $\frac{0}{10}$
<i>Moelle épinière</i>	Cheval .	0,518	0,494	+ 4,6
	Bœuf...	0,498		+ 0,8
	Porc ...	0,468		— 5,2
<i>Substance blanche cérébrale</i>	Cheval .	0,273	0,259	+ 5,1
	Mouton.	0,264		+ 1,8
	Porc. ..	0,241		— 6,9
<i>Subst. grise cérébrale</i> ..	Cheval .	0,247	0,222	+ 10
	Porc. ...	0,217		+ 2,2
	Mouton.	0,204		— 8,1
<i>Foie</i>	Bœuf...	0,217	0,170	+ 21
	Mouton.	0,199		+ 16
	Porc. ...	0,174		+ 2,3
	Cheval .	0,148		— 13
	Veau...	0,110		— 35
<i>Surrénale</i>	Mouton.	0,153	0,145	+ 5,2
	Cheval .	0,152		+ 4,6
	Veau...	0,141		— 2,7
	Bœuf...	0,135		— 6,8
<i>Pancréas</i>	Porc. ...	0,126	0,117	+ 7,1
	Bœuf ..	0,120		+ 2,5
	Cheval .	0,104		— 11,1
<i>Hypophyse</i>	Mouton	0,100	0,096	+ 4
	Cheval .	0,099		+ 3
	Bœuf. ..	0,090		— 6,6
<i>Testicule</i>	Porc ...	0,106	0,083	+ 21
	Bélier ..	0,098		+ 15
	Cheval .	0,082		— 1,2
	Coq ...	0,073		— 12
	Taureau	0,056		— 32,5

TABEAU XIV (suite et fin).

		Chiffres trouvés	Moyenne	Ecart ^o / _o
<i>Poumon</i>	Porc ...	0,096	0,083	+ 13,5
	Bœuf...	0,082		+ 1,1
	Mouton.	0,082		+ 1,1
	Cheval .	0,081		— 2,4
	Veau...	0,076		— 8,4
<i>Cœur</i>	Cheval .	0,092	0,088	+ 4,3
	Veau...	0,091		+ 3,2
	Porc ...	0,088		0
	Bœuf...	0,085		— 3,4
	Mouton.	0,083		— 5,6
<i>Rein</i>	Cheval .	0,088	0,080	+ 10
	Mouton.	0,083		+ 3,6
	Bœuf...	0,078		— 2,5
	Porc ...	0,070		— 12,5
<i>Rate</i>	Veau...	0,085	0,074	+ 12,3
	Bœuf...	0,077		+ 3,2
	Porc ...	0,069		— 4,7
	Mouton.	0,067		— 10
<i>Muscle</i>	Cheval .	0,046	0,038	+ 17,3
	Mouton.	0,041		+ 7,3
	Bœuf . .	0,038		0
	Veau...	0,038		0
	Porc....	0,029		— 23,6
<i>Ovaire</i>	Truie...	0,074	0,048	35
	Brebis..	0,048		0
	Jument.	0,038		— 20,8
	Vache..	0,033		— 31

Et, comme pour le phosphore total, nous pouvons distinguer deux groupes, suivant que les résultats restent serrés autour d'une même moyenne ou qu'au contraire ils s'en écartent largement ;

	Moyenne	Ecart maximum par rapport à la moyenne $\frac{\sigma}{n}$	Ecart moyen (en valeur absolue)
1 ^{er} GROUPE :			
<i>Ecart moyen inférieurs à 10⁰/o</i>			
Moelle épinière	0,494	— 5,2	3,5
Substance cérébrale blanche...	0,259	— 6,9	4,6
— grise ...	0,222	+ 10	3,7
Surrénale	0,145	— 6,8	4,8
Pancréas	0,117	— 11,1	6,9
Hypophyse.....	0,096	— 6,6	4,5
Cœur	0,088	— 5,6	3,3
Poumon	0,083	+ 13,5	5,3
Rein	0,080	— 12,5	4,9
Rate	0,074	+ 12,3	7,5
2 ^e GROUPE :			
<i>Ecart moyen supérieurs à 10⁰/o</i>			
Foie.....	0,170	— 35	17,5
Testicule	0,083	— 32,5	16,3
Muscle	0,038	— 23,6	9,6
Ovaire.	0,048	+ 35	21,7

Dans l'ensemble, ces deux tableaux diffèrent peu des tableaux que nous avons précédemment obtenus pour le phosphore total.

Le poumon reste dans le premier groupe tandis que le foie passe dans le second, avec des variations beaucoup plus marquées que les variations précédemment notées pour le phosphore total

Le testicule et l'ovaire se retrouvent ici dans le second groupe.

Les muscles analysés — qui du reste n'étaient pas des muscles homologues — montrent une teneur en phosphore lipidique peu régulière. Ce fait avait déjà été signalé par MM. MAYER et SCHAEFFER, ainsi que nous l'avons précédemment rapporté.

En résumé, comme l'avaient déjà établi MM. MAYER et SCHAEFFER, la teneur en phosphore lipidique d'un organe donné dans des espèces voisines présente une grande régularité. Les organes génitaux et, dans une bien moindre mesure, le foie et les muscles suivent moins étroitement cette règle.

3° Si nous comparons enfin les moyennes obtenues précédemment chez les animaux d'espèces voisines (mammifères de grosse taille) avec les chiffres obtenus chez les animaux d'espèces moins proches, nous obtenons le tableau suivant (Tableau XV).

La constance que nous avons observée pour le phosphore total du cœur, se retrouve ici pour le phosphore lipidique. Malheureusement un accident survenu au cours des manipulations nous a empêchée d'obtenir le chiffre correspondant au cœur du gardon, qu'il eût été instructif de rapprocher des précédents.

Quoi qu'il en soit, il est intéressant de constater que, malgré les différences de rythme et même de température auxquels fonctionne cet organe chez les divers animaux examinés, il présente dans sa constitution chimique, au point de vue qui nous intéresse ici, une fixité remarquable.

Dans tous les autres organes que nous avons examinés le phosphore lipidique donne lieu, d'espèce à espèce, à d'importants écarts : cerveau, muscle, rein, poumon.

TABLEAU XV.

	Gros mam- mifères (moyenne)	Lapin	Coq	Gardon	Gre- nouille
Cerveau.....	0,259	0,269	0,185	0,166	
Foie.....	0,170	0,172	0,128	0,082	0,062
Poumon.....	0,083	0,139	0,082		
Rein.....	0,080	0,198		0,052	
Rate.....	0,074	0,110			
Cœur.....	0,088	0,090	0,090	dosage manqué	
Ovaire.....	0,048	0,059			
Testicule.....	0,083		0,073		
Appareil génital (♀)...				0,067	0,059
Muscle.....	0,038	0,037	0,028	0,026	0,028

Le poumon du lapin nous a donné un chiffre aberrant (0,139) que nous nous expliquons mal. Mais nous avons retrouvé, dans les chiffres obtenus par MM. MAYER et SCHAEFFER, une anomalie de même ordre pour le poumon du cobaye (0,135).

Le foie nous a donné des chiffres très variables, et beaucoup plus bas chez les animaux à sang froid que chez les animaux à sang chaud. Chez le coq, dont la température

est très élevée (40°), nous avons également trouvé un chiffre plus faible.

La rate du lapin nous a donné un chiffre élevé. Ce fait est à rapprocher de la teneur également très élevée de cet organe en phosphore total chez le même animal.

CHAPITRE VI.

Etude du rapport $\frac{\text{Phosphore lipidique}}{\text{Phosphore total}}$ dans les organes de divers vertébrés.

Il est intéressant, à divers points de vue, d'établir ce rapport.

En premier lieu, parce qu'il traduit immédiatement l'importance relative de la fraction de phosphore liée aux lipides dans l'ensemble des éléments phosphorés de la cellule.

En second lieu, parce qu'il est intéressant de voir si cette relation est ou n'est pas caractéristique des divers organes.

En troisième lieu, parce que l'étude de ce rapport calculé dans des espèces voisines ou non peut nous permettre de saisir l'existence de corrélations — ou leur absence — dans les variations relatives du phosphore total et du phosphore lipidique.

Pour la commodité de la lecture nous avons établi le rapport $\frac{\text{P. lipidique}}{\text{P. total}} \times 100$.

Le tableau suivant (XVI) groupe les chiffres obtenus par ordre de valeur décroissante.

TABLEAU XVI.

Rapport $\frac{\text{P. lipidique}}{\text{P. total}} \times 100.$	
<i>Moelle épinière :</i>	
de cheval.....	86,3
de porc.....	85,5
de bœuf.....	85,3
<i>Substance cérébrale (grise+blanche) :</i>	
de cheval.....	74,5
de bœuf.....	75,2
Cerveau de lapin. .	64,6
— de coq. . .	40,9
— de gardon..	45,7
<i>Substance blanche cérébrale :</i>	
de cheval.....	74,0
de porc.....	70,7
de mouton.....	72,9
<i>Substance grise cé- rébrale :</i>	
de cheval.....	63,4
de porc.....	63,0
de mouton.....	56,9
<i>Foie :</i>	
de cheval.....	46,8
de porc.....	48,3
de bœuf.....	48,5
de veau.....	33
de mouton.....	48,9
de lapin.....	47,5
de coq.....	45,6
de grenouille.	29,7
de gardon.....	28,9
<i>Surrénale :</i>	
de cheval.....	44,3
de bœuf.....	38,0
de veau.....	38 1
de mouton.....	43,9
<i>Cœur :</i>	
de cheval.....	40,6
de porc.....	40,6
de bœuf.....	38,5
de veau.....	40,3
de mouton.....	39,6
de lapin.....	40,3
de coq.....	41,1
<i>Corps jaune :</i>	
de vache.....	40,4-38,9
<i>Poumon :</i>	
de cheval.....	38,9
de porc.....	37,6
de bœuf.....	41,9
de veau.....	33,8
de mouton.....	39,5
de lapin.....	43,7
de coq.....	30,5
<i>Rein :</i>	
de cheval.....	38,7
de porc.....	30,5
de bœuf.....	35,8
de veau.....	»
de mouton.....	31,2
de lapin.....	43,5-41,0
de gardon.....	16,6

TABEAU XVI (suite et fin).

Rapport $\frac{\text{P. lipidique}}{\text{P. total}} \times 100.$	
<i>Hypophyse :</i>	
de cheval.....	36,7
de bœuf.....	34,7
de mouton.....	33,3
<i>Testicule :</i>	
de cheval.....	43,0
de porc.....	38,5
de taureau.....	28,1
de bélier.....	28,7
de coq.....	22,0
<i>Ovaire :</i>	
de jument.....	28,7
de truie.....	41,1
de vache.....	28,4
de brebis.....	25,7
Ovaire + Ovules de grenouille.....	20,0
Appareil génital ♀ de gardon.....	24,0
Ovaire de lapin.....	21,6
<i>Pancréas :</i>	
de cheval.....	22,6
de porc.....	27,7
de bœuf.....	27,5
<i>Thyroïde :</i>	
de cheval.....	27,3
de porc.....	27,1
de bœuf.....	30,9
<i>Placenta :</i>	
de vache.....	22,8
<i>Rate :</i>	
de cheval.....	20,0
de porc.....	23,2
de bœuf.....	26,1
de veau.....	26,4
de mouton.....	21,0
de lapin.....	28,0
<i>Muscle :</i>	
de cheval.....	22,2
de porc.....	14,1
de bœuf.....	17,8
de veau.....	16,4
de mouton.....	19,1
de lapin.....	15,1
de coq.....	13,3
de grenouille.....	12,5
de gardon.....	11,7
<i>Prostate :</i>	
de cheval.....	17,7
<i>Mamelle :</i>	
de jument.....	31,3
de vache.....	19,3

Ici encore, nous avons calculé la teneur moyenne pour chaque organe (dans les espèces voisines) et calculé les variations des chiffres par rapport à cette moyenne.

	Moyenne	Ecart maximum	Moyenne des écarts en valeur absolue
Moelle épinière	85,7	+ 0,6	0,4
Cerveau.....	74,8		
Substance cérébrale blanche...	72,5	+ 2,0	1,6
— — grise	61,4	— 6,8	4,4
Foie.....	48,1	+ 2,8	1,4
Surrénale.....	41,0	+ 7,4	7,0
Cœur.....	39,9	— 3,5	1,7
Corps jaune (vache).....	38,9		
Poumon	38,5	+ 8,8	5,3
Hypophyse	34,9	+ 4,9	3,3
Rein	34,0	+12,0	8,8
Testicule	34,5	+19,9	14,2
Ovaire.....	30,9	33,0	16,0
— (sans tenir compte de la truie)....	27,6	6,8	4,4
Thyroïde	28,4	+ 8,0	5,4
Pancréas.....	25,9	—12,0	8,1
Rate	23,3	—14,1	9,3
Placenta.....	22,8		
Muscle	17,9	—21,0	11,5
Prostate	17,7		
Mamelle.....	— variable		

Trois organes seulement donnent lieu, d'espèce à espèce,
à des variations importantes :

Le testicule ;

L'ovaire ;

Le muscle.

Pour tous les autres, le rapport ne donne lieu qu'à des variations moyennes inférieures à 10 0/0. Dans un certain nombre de cas : substance cérébrale, moelle épinière, cœur, hypophyse, il acquiert une fixité remarquable.

Au foie, dont nous avons signalé dans les précédents chapitres les tendances aux variations, correspond un rapport très fixe. Toutefois, nous n'avons pas introduit dans le calcul du chiffre moyen le coefficient trouvé pour le foie du veau. Nous reviendrons sur ce point ultérieurement.

Un autre fait curieux est à signaler : l'ovaire nous a donné les rapports suivants :

Jument.....	28,7
Vache.....	28,4
Brebis.....	25,7
Truie.....	41

Nous avons établi notre moyenne sur ces 4 chiffres et trouvé la valeur 30,9 autour de laquelle les écarts sont assez considérables. Mais il est intéressant de constater que le chiffre obtenu pour la truie est nettement aberrant et si, ce qui semble assez logique, on établit la moyenne sans le compter, on trouve pour la jument, la vache et la brebis le chiffre moyen de 27,6 autour duquel les écarts pour cent sont très faibles : (+ 3,85) pour la jument, (+ 2,8) pour la vache et (— 6,8) pour la brebis. L'écart moyen est seulement de 4,4 0/0. Ainsi, tandis que, chez ces trois animaux, le phosphore total et le phosphore lipidique de l'ovaire semblent en état de continuelle variation, le rapport entre ces deux quantités reste remarquablement fixe.

Fait d'autant plus intéressant que, (nous l'avons déjà

montré), les variations du phosphore total et du phosphore lipidique dans les espèces considérées ne sont pas expliquées par de simples variations dans l'hydratation du tissu.

Que penser cependant du chiffre trouvé pour la truie ? Les dosages ont été faits sans accidents, par les mêmes techniques, sur un échantillon moyen d'un très grand nombre d'ovaires. S'agit-il d'un cas particulier ? Nous pensons que ce point est à revoir.

Si nous pouvons envisager pour l'ovaire l'hypothèse d'un rapport ayant une certaine fixité, il en est tout autrement pour le testicule. Les variations y sont extrêmement nettes, du même ordre que les variations respectives du phosphore total ou du phosphore lipidique. Nous ne retrouvons pas ici l'expression d'une relation invariable entre ces deux grandeurs. Le fait est physiologiquement très explicable par suite de l'apport phosphoré très variable et considérable des éléments spermatiques. Il eut été intéressant de pouvoir affirmer de façon nette cette distinction entre l'organe mâle et l'organe femelle.

Quant au muscle, organe dont l'hydratation varie peu, les variations du rapport $\frac{P. L.}{P. T.}$ s'expliquent, comme nous l'avons vu, par une variation entre espèces beaucoup plus marquée pour le phosphore lipidique que pour le phosphore total (1).

Si, en résumé, nous mettons à part le chiffre obtenu pour l'ovaire de la truie, nous constatons que la notion de « constante », déjà envisagée pour le phosphore total et le phosphore lipidique, se manifeste encore, peut être même plus nettement, pour le rapport : $\frac{P. L.}{P. T.}$.

Il est instructif de comparer à ce point de vue les chiffres moyens obtenus dans les trois cas chez les Mammifères : cheval, bœuf, mouton, porc (Tableau XVII).

(1) Envisagé sur des muscles homologues d'animaux de même espèce, le rapport $\frac{P. lipidique}{P. total}$ présente une remarquable constance.

(Th. CAHN). [3 bis].

TABLEAU XVII.

(Mammifères)	Phosphore total ‰ Mat. fr.	
	Moyenne	Ecart ‰ par rapport à la moyenne
Moelle épinière...	0,573	3,5
Thymus	0,487	
Pancréas	0,450	2,1
Foie.....	0,363	7,3
Substance grise.....	0,366	4,2
Substance blanche.....	0,357	3
Surrénale.....	0,354	2,3
Rate.....	0,301	4,7
Hypophyse	0,277	5,3
Parathyroïde.....	0,270	
Rein	0,244	7,8
Poumon	0,222	7
Muqueuse gastrique.....	0,220	
Cœur.....	0,220	2,5
Placenta.....	0,216	
Muscle	0,216	3,6
Thyroïde	0,130	6,3
Prostate	0,132	
Testicule	0,255	18,5
Ovaire	0,153	17,7
Mamelle	0,113	

TABLEAU XVII (*Suite*).

(Mammifères)	Phosphore lipidique ‰ Mat. fr.	
	Moyenne	Ecart ‰ par rapport à la moyenne
Moelle épinière	0,494	3,5
Substance blanche.....	0,259	4,6
Substance grise.....	0,222	3,7
Surrénale.....	0,145	4,8
Pancréas	0,117	6,9
Hypophyse	0,096	4,5
Cœur.....	0,088	3,3
Poumon	0,083	5,3
Rein ..	0,080	4,9
Rate	0,074	7,5
Placenta.....	0,050	
Thymus	0,042	
Prostate.....	0,024	
Foie	0,170	17,5
Testicule ..	0,083	16,3
Ovaire.....	0,048	21,7
Muscle.....	0,038	9,6
Mamelle.....	0,028	21

TABLEAU XVII (*Suite et fin*).

Mammifères	P. lipidique $\times 100$	
	P. total	
	Moyenne	Variation $\frac{0}{0}$ par rapport à la moyenne
Moelle épinière	85,7	0,4
Cerveau	74,8	
Substance blanche	72,5	1,6
Substance grise... ..	61,1	4,4
Foie.....	48,1	1,4
Surrénale.....	41,0	7
Cœur.....	39,9	1,7
Corps jaune	38,9	
Poumon.....	38,5	5,3
Hypophyse.....	34,9	3,3
Rein	34,0	8,8
Thyroïde	28,4	5,4
Ovaire.....	27,6	4,4
Pancréas	25,9	8,1
Rate.....	23,3	9,3
Placenta.....	22,8	
Prostate.....	17,7	
Thymus	8,7	
Testicule	34,5	14,2
Muscle	17,9	11,5
Mamelle.....	24,7	

Les variations du rapport pour un même organe, dans des espèces voisines, sont en général moins marquées que les variations des facteurs, et le rapport prend parfois la valeur d'une constante dans certains organes où cette notion n'avait pu être envisagée par la seule considération d'un des éléments : phosphore total ou phosphore lipidique.

Nous devons maintenant rapprocher les valeurs ci-dessus trouvées dans les organes des gros mammifères, des valeurs obtenues pour le même rapport dans les organes correspondants d'animaux d'espèces plus éloignées.

En voici le tableau d'ensemble :

	Moyenne chez les gros mammifères	Lapin	Coq	Gardon	Grenouille
Cerveau	74,8	64,6	40,9	45,7	»
Foie.	48,1	47,5	45,6	28,9	29,7
Cœur.	39,9	40,3	41,1	»	»
Poumon	38,5	43,7	30,5	»	»
Rein.	34	43,5 41	»	»	»
Rate	23,3	28	»	16,6	»
Ovaire.	27,6	21,6	»	»	»
Testicule.	34,5	»	22	»	»
Appareil génital (♀)	»	»	»	24	20
Muscle.	17,9	15,1	»	11,7	12,5

Le cœur, ainsi qu'on pouvait s'y attendre, présente une constance remarquable. Nous nous sommes déjà étendue sur ce point.

Tous les autres organes ont donné des chiffres variables d'une espèce à l'autre. Un organe, cependant, retient notre attention de façon toute particulière. C'est le foie. Nous avons remarqué que cet organe, tant par son phosphore total que par son phosphore lipidique, donnait lieu, d'une espèce à l'autre, à des variations très marquées. Nous avons en outre remarqué qu'en revanche, dans des espèces voisines et d'état physiologique comparable, le rapport $\frac{P. L.}{P. T.}$ était remarquablement fixe.

Or, notre dernier tableau nous montre que la valeur fixe de ce rapport se retrouve chez des animaux différents des gros mammifères tels que le lapin et le coq (48, 1 mam., 47,5 lapin, 45,6, coq). Ce détail nous paraît du plus haut intérêt.

Plus encore, si nous remarquons que le même rapport, envisagé chez le gardon et la grenouille prend des valeurs très différentes, beaucoup plus basses, mais pratiquement égales entre elles (28,9 chez le gardon, 29,7 chez la grenouille). Il semblerait donc que la valeur moyenne trouvée pour les gros mammifères eût une portée en réalité plus générale et s'étendit à tous les homéothermes, tandis que la valeur plus basse trouvée pour le gardon et la grenouille serait sans doute valable pour l'ensemble des poïkilothermes (vivant dans des conditions comparables bien entendu).

Or, dans un important travail publié en 1924, MM. MAYER et SCHAEFFER avaient exposé des expériences et des considérations tout à fait analogues. Ces auteurs avaient observé que, lorsqu'ils abaissaient la température d'un homéotherme sans que l'organisme réagit, le taux du phosphore lipidique de ses tissus s'abaissait légèrement. Dès que l'organisme réagissait contre le refroidissement,

ils voyaient au contraire le taux du phosphore lipidique s'élever. Dans certains cas (chien), cette augmentation très importante n'était apparente *que dans le foie* ; dans d'autres cas (lapin), elle se manifestait principalement *dans le poumon et dans le foie*.

Inversement, lorsque l'organisme d'un homéotherme réagit contre un échauffement provoqué, la teneur du foie en phosphore lipidique peut diminuer.

Ces expériences, disent les auteurs, démontrent de la façon la plus nette qu'il y a un rapport entre le taux des lipides dans les tissus et la thermogénèse et que le siège principal de cette relation se trouve dans le foie et à un degré peut-être moindre dans le poumon.

Les différences très marquées dans les proportions de phosphore lipidique par rapport au phosphore total que nous avons trouvées entre les animaux à sang chaud et les animaux à sang froid viennent tout à fait à l'appui de cette manière de voir.

Toutefois un autre point nous paraît intéressant : c'est précisément la valeur extrêmement fixe de ce rapport chez les animaux à sang chaud (si l'on nous permet d'admettre qu'il ne s'agit pas d'une simple coïncidence). Un animal tel que le lapin dont la surface de rayonnement est relativement considérable par rapport à celle d'un cheval ou d'un bœuf, a nécessairement une thermogénèse beaucoup plus active. Le rythme extrêmement pressé de sa respiration en est la manifestation patente. Or, MM. MAYER et SCHAEFFER ont trouvé dans le foie de cet animal une teneur en phosphore lipidique absolument identique à la teneur en phosphore lipidique du foie d'animaux beaucoup plus gros. Nous avons obtenu nous-même un résultat semblable (gros mammifères : 0,170 ; lapin : 0,172). Chez le pigeon, animal dont la thermogénèse est beaucoup plus active encore (dépense d'énergie et température élevée), MM. MAYER et SCHAEFFER

trouvent encore un chiffre identique au chiffre trouvé chez les autres animaux à sang chaud. Nous-même, étudiant le foie du coq, trouvons, chose surprenante, un taux de phosphore lipidique *plus bas* que chez les mammifères. Or, et ceci nous paraît remarquable, nous constatons que, dans ce cas particulier, le taux du phosphore total est précisément abaissé de façon proportionnelle et que le rapport reste constant.

Nous n'avons, malheureusement, ni le nombre de documents, ni l'autorité nécessaires pour interpréter de pareils faits. Une remarque cependant nous vient à l'esprit : le problème de la thermogénèse n'existe pas chez les poikilothermes ; leurs combustions n'ont d'autre but que de fournir la source d'énergie nécessaire à leur mouvement et à leur vie. Le phosphore lipidique de leur foie ne peut donc être qu'un élément protoplasmique constitutif du tissu hépatique, ou un élément énergétique non destiné à la thermogénèse. Il semblerait, d'après nos chiffres (évidemment trop peu nombreux), que ce taux de phosphore lipidique fût une fraction constante du phosphore total. Chez l'homéotherme, il s'ajouterait, à ce substratum nécessaire, un supplément de lipides destinés à assurer la thermogénèse ; mais, fait remarquable, quelle que soit la température ou les besoins énergétiques de l'animal, ce taux reste constant et égal à une fraction donnée, toujours la même, du phosphore total. Il semblerait que la thermogénèse soit réglée, *chez l'animal normal*, non par le taux même des lipides, mais par leur « qualité énergétique » ou plus vraisemblablement par leur rythme d'utilisation. C'est bien ainsi que l'on peut, en effet, interpréter l'expérience suivante de MM. MAYER et SCHAEFFER : chez un homéotherme *anormalement* refroidi, la réaction entraîne, en premier lieu, un abaissement notable de la concentration en phosphore lipidique, bientôt suivi d'une augmentation considérable.

L'équilibre normal de la cellule correspondrait donc à un certain rythme d'utilisation compensé par un certain rythme de remplacement. Dans des conditions anormales (refroidissement artificiel relativement brusque), le rythme d'utilisation s'exagère le premier et entraîne un abaissement momentané du taux des lipides. Puis le rythme de remplacement s'adapte et même, suivant une loi organique générale, s'exagère quelque peu.

Il eut été évidemment très intéressant, au cours de ces expériences, de considérer non seulement le taux absolu des lipides, mais aussi le rapport $\frac{\text{P. lipidique}}{\text{P. total}}$.

Il nous semble en effet que, si l'on pouvait démontrer d'une façon absolue la fixité du rapport $\frac{\text{P. L.}}{\text{P. T.}}$ au cours des variations artificiellement provoquées de la thermogénèse, on aurait prouvé de façon à peu près péremptoire qu'il existe dans la cellule hépatique, entre les différentes « formes » de phosphore, autre chose que de simples relations d'équilibre : très probablement cet état « d'unité » physico-chimique complexe que nous soupçonnons derrière les fractions artificielles auxquelles aboutissent nos traitements chimiques brutaux.

Nous n'insisterons pas davantage sur ce problème fondamental qui nous entraînerait rapidement hors du champ de nos modestes recherches.

CHAPITRE VII.

Application des données précédentes et, d'une façon plus générale, de l'étude des bilans et rapports phosphorés à la caractérisation et à l'essai des poudres organothérapeutiques.

La forme pharmaceutique la plus utilisée en organothérapie est celle des poudres d'organes que l'on obtient par pulpation des glandes ou autres tissus frais, dessiccation rapide de ces pulpes, de préférence dans le vide à basse température, enfin broyage et tamisage (1).

Le but à atteindre est d'obtenir une poudre d'organes qui soit la représentation aussi fidèle que possible de l'organe frais, une poudre dans laquelle les constituants chimiques du tissu soient respectés dans la plus entière mesure, tant dans leur constitution que dans leurs rapports quantitatifs, et dans laquelle les substances douées d'une haute activité physiologique ne se trouvent pas atténuées.

Si les techniques de préparation sont bien conçues et bien appliquées, le but que nous venons de définir doit

(1) Nous avons largement emprunté pour la rédaction de ce chapitre au mémoire que nous avons publié avec M. M. Javillier et M. H. Allaire,

être atteint et la poudre doit être équivalente à l'organe frais, nous entendons que, l'eau mise à part, tous les principes immédiats doivent se trouver dans le médicament en rapports quantitatifs égaux à ceux dans lesquels ils se rencontrent dans le tissu vivant. Seuls, se trouvent détruits la structure cellulaire de la matière vivante et l'état physique de ses constituants.

Il est curieux d'observer combien ces données pourtant évidentes, ont peu influé sur les principes qui sont appliqués à l'identification et à l'essai des poudres organothérapiques. La pharmacopée française de 1908 ne prévoit rien du tout ; elle ne mentionne d'ailleurs pas les poudres ; elle s'en tient aux extraits d'organes injectables. Les laboratoires de contrôle ne procèdent guère qu'à la recherche qualitative ou au dosage de telle substance ou de tel élément caractéristique d'un tissu donné (adrénaline de la poudre de surrénale, iode de la poudre de thyroïde) ou à une détermination d'activité diastasique (diastases de la poudre de pancréas).

Ces essais sont évidemment d'une importance fondamentale et, quand on les peut pratiquer, ils constituent la meilleure méthode d'identification et d'essai d'un produit opothérapique. Mais ces essais n'importent pas seuls et il est en outre des cas où il n'existe guère de principe actif susceptible d'être facilement dosé chimiquement ou physiologiquement. Par exemple, que fait-on actuellement pour identifier et apprécier une poudre de rein, une poudre de foie, une poudre orchitique, ou ovarienne, ou placentaire, ou prostatique, etc.? On ne fait rien ou à peu près, car l'on se contente de déterminations générales : analyse de cendres qui peut mettre sur la voie d'une falsification grossière ou de l'addition de quelque antiseptique minéral ; recherche et dosage de substances banales, telles que : amidon ou lactose, etc. Il y a pourtant dans toutes les cellules vivantes des séries de matériaux de construction

permanents et indispensables : matières protéiques, composés nucléiques, phosphatides, stérols, substances minérales, etc., dont la présence est constante, ce qui peut les faire paraître banales, mais dont les proportions relatives sont variables avec les tissus envisagés, et, dans une plus ou moins grande mesure, pour un même tissu, avec les espèces animales. Le protoplasme normal de chaque tissu, pour une espèce donnée, résulte d'un équilibre sinon rigoureux, du moins maintenu en de certaines limites, entre tous ces principes.

La notion de « constante cellulaire », dont nous avons longuement parlé déjà, traduit en des chiffres concrets ces considérations.

MM. MAYER et SCHAEFFER l'ont établie pour le cholestérol, pour le rapport du cholestérol aux acides gras [49], pour le phosphore lipidique. Nous l'avons retrouvée, sur les directives de M. JAVILLIER, pour le phosphore total et le rapport de $\frac{\text{Phosphore lipidique}}{\text{Phosphore total}}$. M. JAVILLIER lui-même l'a établie encore pour le phosphore nucléique et les divers rapports :

$$\frac{\text{Phosphore nucléique}}{\text{Phosphore lipidique}} \text{ et } \frac{\text{Phosphore nucléique}}{\text{Phosphore total}}$$

Nous rappelons ici, pour mémoire, les chiffres obtenus par MM. MAYER et SCHAEFFER, bien qu'ils ne s'appliquent pas à des organes d'animaux utilisés en organothérapie — au point de vue du principe qui nous occupe, il importe peu.

Pour le cholestérol, les chiffres oscillent de 5 à 11 % autour des moyennes, sauf pour les muscles où les oscillations sont plus étendues. On voit qu'ils diffèrent largement les uns des autres ; il y a, par exemple, dans le poumon, 6 à 8 fois plus de cholestérol que dans le muscle.

	Cholestérol $\frac{0}{0}$ de tissu sec			
	Chien	Lapin	Cobaye	Pigeon
Poumon	2	2,02	1,57	1,7
Rate.	»	»	1,37	»
Testicule	1,80	»	»	»
Rein.	1,24	1,53	1,09	1,5
Pancréas.	0,73	»	»	»
Foie	0,71	0,88	0,60	1,22
Cœur.	0,43	»	»	»
Muscle.	0,28	0,24	0,24	0,26

Pour les acides gras, les différences sont plus effacées ;
*il n'y a pas de véritable indice d'acides gras pour
chaque organe.*

	Acides gras $\frac{0}{0}$ de tissu sec			
	Chien	Lapin	Cobaye	Pigeon
Poumon	10,1	12,4	10,16	7,3
Rate	»	»	14,8	»
Testicule	15,18	»	»	»
Rein	11,98	11,93	13,9	17,0
Pancréas	11,91	»	»	»
Foie	10,5	10,61	8,96	16,0
Cœur	10,07	»	»	16,9
Muscle	11,38	3,18	0,03	16,9

Mais si l'on établit le rapport $\frac{\text{cholestérol}}{\text{acides gras}}$ on trouve des chiffres qui acquièrent plus de signification, *des chiffres qui sont caractéristiques de divers organes*. Exemple:

	Rapports $\frac{\text{cholestérol} \times 100}{\text{acides gras}}$			
	Chien	Lapin	Cobaye	Pigeon
Poumon	20,0	17,1	15,5	24,1
Rate	»	»	9,3	»
Testicule	11,8	»	»	»
Rein	10,5	13,3	7,8	9,1
Pancréas	6,18	»	»	»
Foie	6,8	8,4	6,5	7,9
Cœur	4,31	»	»	3,2
Muscle	2,2	7,3	2,8	1,6

Nous avons nous-mêmes longuement insisté, dans les précédents commentaires, sur la fixité relative que présente dans un organe donné (chez les animaux bien portants de même espèce ou d'espèces voisines), le taux de phosphore total, de phosphore lipidique et la valeur du rapport : $\frac{\text{P. lipidique}}{\text{P. total}}$.

Nous avons fait ressortir également que, chez un animal donné, les teneurs des différents organes en l'un des éléments ou principes considérés étaient nettement différentes. De même que la teneur en cholestérol, ou le rapport $\frac{\text{cholestérol}}{\text{acides gras}}$, les chiffres que nous avons trouvés, soit pour le phosphore total, soit pour le phosphore lipidique, soit

pour le rapport $\frac{\text{P. Lipidique}}{\text{P. Total}}$ acquièrent pour chaque organe la valeur « d'indices caractéristiques ».

Ce sont des considérations de cet ordre, qui ont conduit M. JAVILLIER à penser, qu'indépendamment de leur intérêt théorique les indices que j'avais établis expérimentalement trouveraient leur utilisation pratique pour l'identification et l'essai des poudres organothérapiques.

Nous avons réuni dans le Tableau XVII (voir page 119) les teneurs moyennes en phosphore total et phosphore lipidique trouvées pour chaque organe dans des espèces voisines (1), ainsi que la valeur moyenne du rapport $\frac{\text{P. lipidique}}{\text{P. total}}$.

L'examen de ce tableau montre que, dans certains cas, d'ailleurs rares, l'un ou l'autre des indices peut prendre une valeur tout à fait particulière. Tels sont les indices de phosphore total, et plus encore l'indice de phosphore lipidique, trouvés pour la moelle épinière, dont les valeurs sont si élevées qu'on pourrait par ces seules données « caractériser » l'organe. Très souvent, au contraire, nous trouvons, pour des organes différents, des indices de phosphore total ou des indices de phosphore lipidique très voisins.

Il serait tout à fait impossible de différencier les uns des autres par la seule valeur de l'indice de phosphore total, par exemple, des organes tels que :

	P. T. $\frac{\%}{\text{de tissu frais}}$
Pancréas.....	0,450
Thymus.....	0,487
Substance cérébrale.....	0,354
Foie.....	0.363

On trouverait ainsi de nombreux exemples où les chiffres obtenus se serrent de très près, et même, étant donné la

(1) Cheval, bœuf, mouton, porc.

marge des variations assez large pour certains d'entre eux, ont parfois tendance à chevaucher.

Il en est de même si l'on considère isolément le phosphore lipidique au lieu du phosphore total, ou encore le rapport $\frac{\text{P. lipidique}}{\text{P. total}}$. Il importe, en effet, d'éviter toute confusion entre la notion « d'indice » et la notion de « caractéristique différentielle ». Telle donnée, constante pour un tissu déterminé, est un « indice » de ce tissu, en ce sens qu'elle fait partie de ses caractères déterminants et que, rapprochée d'autres indices elle peut contribuer à le caractériser. Dans des cas exceptionnels, un seul indice peut acquérir la valeur d'un caractère différentiel. Ainsi pour le phosphore total ou le phosphore lipidique (ou le rapport de l'un à l'autre) dans le tissu spinal. Mais un tel exemple ne peut aucunement, nous l'avons vu, être généralisé.

Si l'on considère, au contraire, ces indices, non plus isolément, mais ensemble, un assez grand nombre d'organes peuvent être nettement caractérisés.

Tel tissu, dont la teneur en phosphore total est voisine de 0 g.,400 pour 100 g. de tissu en son état normal d'hydratation, peut être indifféremment du thymus, de la substance cérébrale, ou du foie, ou du pancréas. Mais, si la teneur en phosphore lipidique est voisine de 0,04 et si la valeur du rapport est voisine de 10, ce tissu ne peut être que du thymus. Aucune confusion n'est possible entre les organes suivants cependant très voisins par leur teneur en phosphore total.

	P. T.	P. L.	$\frac{P. L.}{P. T.}$
Pancréas.	0,450	0,117	25,9
Thymus.	0,487	0,042	8,7
Substance cérébrale blanche. .	0,357	0,259	72,5
Foie.	0,366	0,170	48,1
Surrénale	0,354	0,145	41

Inversement, voici des organes que les valeurs du rapport $\frac{P. L.}{P. T.}$ considérées isolément ne permettraient pas de différencier avec certitude, mais qui ne peuvent être confondus si l'on considère en même temps les valeurs respectives des facteurs correspondants.

	P. T.	P. L.	$\frac{P. L.}{P. T.}$
Rate.	0,301	0,074	23,3
Ovaire.	0,153	0,048	27,6

Il n'en est pas en vérité toujours ainsi, et dans certains cas le rapprochement des trois données ne suffit pas encore pour différencier les tissus.

	P. T.	P. L.	$\frac{P. L.}{P. T.}$
Cœur.	0,220	0,088	39,9
Poumon.	0,222	0,083	38,6

Il faut, dans ces cas particuliers, faire intervenir de nouveaux « indices » qui, s'ajoutant à ceux-ci, permettront de lever le doute.

L'indice de phosphore nucléique présente à ce point de vue un grand intérêt.

Nous n'avons pas fait état dans les pages précédentes des intéressantes données relatives à cet indice. Des raisons personnelles, dont nous avons déjà parlé, nous ont empêchée, en effet, de collaborer longuement à cette question. Toutefois, nous avons pratiqué le dosage du phosphore dans un assez grand nombre de précipités nucléiques préparés par M. H. ALLAIRE au laboratoire de M. JAVILLIER.

Les résultats de ces dosages ont été publiés dans le mémoire commun auquel nous avons fait allusion [20] [21] et, sans parler des techniques que nous n'avons pas personnellement pratiquées, nous les consignons dans le tableau suivant.

Les indices se rapportent ici à cent grammes de poudre sèche, ce qui ne change rien, pour ce cas particulier, à leur interprétation (voir tableau p. 136).

Un premier point fort intéressant apparaît immédiatement : c'est que l'écart entre les chiffres extrêmes de ce tableau est très large.

Tandis que l'indice de phosphore total ne variait dans les cas extrêmes que de 1 (thyroïde) à 4 (thymus), le phosphore lipidique de 1 (thyroïde) à 20 (moelle épinière) et le rapport entre les deux données, de 1 à 10 environ, les valeurs extrêmes trouvées pour le taux du phosphore nucléique varient dans le rapport de 1 (moelle épinière) à 125 (thymus).

Les écarts entre les divers indices obtenus pour les divers organes d'un animal donné sont de même très marqués. Or, il est évident que cette grande variabilité dans la valeur des indices d'un organe à l'autre est très intéressante au point de vue qui nous occupe.

	Phosphore nucléaire pour cent de tissu sec				
	Cheval	Porc	Bœuf	Veau	Mouton
Muscle	0,032	0,042	0,028	0,021	0,050
Muqueuse gastrique.....	»	0,341	»	»	»
Foie.....	0,160	0,250	0,119	0,204	0,138
Pancréas.	0,651	0,250	0,105	»	»
Poumon.....	0,220	0,323	0,20	0,397	»
Cœur.....	0,046	0,060	»	0,680	0,064
Rein.....	0,158	0,251	0,126	»	»
Subst. grise cérébrale...	0,090	»	»	»	»
— blanche cérébrale.	0,039	0,010	»	»	0,037
Moelle épinière.....	0,020	< 0,010	0,015	»	»
Surrénale.....	0,165	0,200	»	0,231	0,139
Rate.....	0,380	0,406	0,114	»	0,428
Hypophyse	0,220	»	0,253	»	0,436
Thyroïde.	0,120	0,123	0,145	»	0,077
Thymus.	»	»	»	1,250	»
Testicule.	»	0,244	0,341	»	0,081
Prostate.....	0,230	»	»	»	»
Ovaire.....	0,154	0,185	0,241	»	»
Mamelle.	»	»	0,183	»	»
Placenta.....	»	»	0,394	»	»
Corps jaune.....	»	»	0,142	»	»

Quant à l'ordre de classement des divers organes, il nous apparaît très nettement différent du classement établi par le moyen des autres indices. L'on peut classer brièvement les organes de la façon suivante :

Exceptionnellement riche en phosphore nucléaire (plus de 1 p. 100) : thymus.

Riches (0,3 à 0,6 p. 100) : pancréas, rate, placenta, poumon, testicule.

Moins riches (0,1 à 0,3 p. 100) : prostate, foie, rein, ovaire.

Pauvres (moins de 0,1 p. 100) : tissu nerveux, cœur, muscle.

La moelle épinière est exceptionnellement pauvre.

Voici maintenant le tableau qui nous donne les valeurs du rapport $\frac{P. \text{ nucléaire}}{P. \text{ total}}$ (voir p. 138).

Ici encore, les différents organes se différencient nettement les uns des autres, chez un animal donné, par la proportion du phosphore engagée dans des composés nucléiques.

On voit que la poudre de thymus renferme plus de 60 % de son phosphore sous forme de composés nucléiques.

Viennent ensuite avec un rapport élevé (de 20 à 40 %) : hypophyse, pancréas, rate, glande thyroïde, muqueuse, gastrique, mamelle, placenta, ovaire, poumon, prostate ; puis avec un rapport compris entre 8 et 20 % : foie, rein, surrénale, testicule (généralement).

Le rapport $\frac{P. \text{ nucl.}}{P. \text{ total}} \times 100$ est très inférieur à 8 pour les tissus musculaires et nerveux. Dans la moelle épinière, il tombe aux environs de 1 et même au-dessous.

Les rapports extrêmes ont été : 0,5 % (moelle épinière de porc) et 61,5 (thymus de veau).

Ces indices, rapprochés des autres, permettraient la caractérisation à peu près certaine de la plupart des poudres organothérapiques.

Ainsi, pour en revenir à un exemple déjà proposé, le cœur et le poumon qui n'avaient pu être différenciés l'un

	Rapport $\frac{\text{P. nucléaire} \times 100}{\text{P. total}}$				
	Cheval	Porc	Bœuf	Veau	Mouton
Muscle	4,	5,1	3,3	2,2	5,8
Muqueuse gastrique.....	»	31,5	»	«	»
Foie.....	15,7	20,8	8,75	17,2	11,3
Pancréas	35,7	13,1	6,3	»	»
Poumon	21,4	28,	20,7	31,	»
Cœur.....	4,8	6,1	»	7,	6,4
Rein	13,8	21,4	11,5	»	»
Substance grise cérébrale	5,3	»	»	»	»
Substance blanche --	2,5	2,6	»	»	2,3
Moelle épinière.....	1,2	0,5	0,88	»	»
Surrénale	12,	»	14,7	13,7	8,
Rate	31,5	30,8	31,8	»	30,1
Hypophyse.....	18,8	»	20,6	»	36,3
Thyroïde	33,9	26,9	22,5	»	9,3
Thymus	»	»	»	61,5	»
Testicule	»	15,9	19,9	»	5,1
Prostate	26,6	»	»	»	»
Ovaire.....	19,2	19,	27,3	»	»
Mamelle.....	»	»	31,8	»	»
Placenta.....	»	»	31,	»	»
Corps jaune.....	»	»	12,3	r	»

de l'autre par les indices précédemment cités, le sont aisément par leur teneur en phosphore nucléique :

	P. T. ‰ de tissu frais	P. L. ‰ de tissu frais	$\frac{P. L.}{P. T.} \times 100$	P. N. ‰ de tissu frais	$\frac{P. N.}{P. T.} \times 100$
Cœur...	0,220	0,088	39,9	0,0105	4,8
Poumon.	0,222	0,083	38,6	0,0475	21,4

On pourrait d'ailleurs, nous l'avons déjà dit, établir encore d'autres rapports, où entreraient les valeurs du phosphore nucléique : tel serait le rapport de $\frac{P. \text{nucléique}}{P. \text{lipidique}}$ établi entre les deux formes les plus hautement différenciées du phosphore physiologique. Ces rapports offriraient un grand intérêt biochimique. Dans le cas particulier qui nous occupe, nous nous contenterons de les signaler.

Nous remarquerons enfin, en terminant, que l'établissement de ces indices peut avoir encore un autre intérêt qu'un intérêt « diagnostique ».

Nous avons observé en effet au cours de nos essais que certains indices (indice de phosphore lipidique) tendent à s'abaisser considérablement dans des poudres d'organes trop anciennes. On pourrait donc, par l'étude de cet indice, juger de l'état de conservation d'une poudre organothérapique d'identité connue. Nous n'insisterons pas davantage sur ce point particulier que nous n'avons pas suffisamment approfondi.

En résumé, les poudres organothérapiques se différencient :

1° *Par leur teneur en phosphore total.* — Chiffres extrêmes trouvés : 0,456 (thyroïde de porc) et 2,030

(thymus de veau). L'étendue des variations est de 1 à 4,4.

2° *Par leur teneur en phosphore lipidique.* — Chiffres extrêmes trouvés : 0,101 (thyroïde de mouton) et 1,551 (moelle épinière du bœuf). L'étendue des variations est de 1 à 15,3.

3° *Par leur teneur en phosphore nucléaire.* — Chiffres extrêmes trouvés : moins de 0,01 % (moelle épinière de porc) et 1,25 % (thymus de veau). L'étendue des variations est de 1 à 125.

Pour une poudre d'organe donnée, à la condition qu'elle résulte d'une bonne préparation, les chiffres de phosphore total, lipidique et nucléaire, sont assez constants pour constituer des caractéristiques de cette poudre. Les rapports entre ces chiffres $\left(\frac{P. \text{ lip. }}{P. \text{ tot. }} \text{ et } \frac{P. \text{ nucl. }}{P. \text{ tot. }}\right)$ ne sont pas moins typiques et doivent concourir, avec les données précédentes, à l'identification et à l'essai d'une poudre organothérapique.

Voici, par exemple, les caractères d'identité des poudres musculaire, splénique, cérébrale, thymique, en ce qui concerne la répartition du phosphore.

Poudre musculaire. — Un faible taux de phosphore total (de 0,78 à 0,96 %, en tous cas inférieur à 1 %).

Peu de phosphore lipidique (de 0,10 à 0,20 %).

Peu de phosphore nucléaire (de 0,02 à 0,05 %).

Rapport..... $\frac{P. \text{ lip. }}{P. \text{ tot. }} \times 100$ plutôt faible : de 14 à 22.

Rapport..... $\frac{P. \text{ nucl. }}{P. \text{ tot. }} \times 100$ très faible : de 2 à 5.

Poudre splénique. — Un taux assez élevé de phosphore total (de 1,20 à 1,50 %)

Un taux moyen, plutôt faible, de phosphore lipidique (de 0,20 à 0,35 %).

Un taux relativement élevé de phosphore nucléique (de 0,38 à 0,43 %).

Rapport..... $\frac{P. \text{ lip. }}{P. \text{ tot. }} \times 100$ plutôt faible : de 20 à 26.

Rapport..... $\frac{P. \text{ nucl. }}{P. \text{ tot. }} \times 100$ valeur moyenne : de 30 à 32.

Poudre cérébrale. — Substance blanche.

Un taux élevé de phosphore total (de 1,5 à 1,7 %).

Un taux élevé de phosphore lipidique (1,1 % environ).

Très peu de phosphore nucléique (0,05 % et même moins).

Rapport..... $\frac{P. \text{ lip. }}{P. \text{ tot. }} \times 100$ très élevé : de 70 à 75.

Rapport. $\frac{P. \text{ lip. }}{P. \text{ tot. }} \times 100$ très faible : de 2 à 3.

Poudre thymique. — Un taux élevé de phosphore total (plus de 2 %).

Un faible taux de phosphore lipidique (moins de 0,2 %).

Un taux relativement considérable de phosphore nucléique (environ 1,25 %).

Rapport..... $\frac{P. \text{ lip. }}{P. \text{ tot. }} \times 100$ faible : environ 9.

Rapport..... $\frac{P. \text{ nucl. }}{P. \text{ tot. }} \times 100$ considérable : plus de 60.

Il nous apparaît que l'on ne saurait révoquer en doute la valeur de telles données pour l'identification et l'essai des poudres organothérapiques.

Nous n'avons pris ici en considération que le phosphore, parce que cet élément était l'objet même de notre étude. Mais il est évident qu'on ne serait pas embarrassé pour trouver d'autres « indices » des poudres organothérapiques. Leur teneur en tel autre élément, ou en tel principe défini (cholestérol, etc.), seraient de nouveaux « indices ». De même tels rapports judicieusement choisis.

Il nous suffira ici d'avoir manifesté le bien-fondé du mode

d'essai dont nous avons énoncé le principe, d'avoir apporté quelques résultats nouveaux et montré, qu'à défaut de dosage de principes actifs, l'on peut, en s'inspirant de faits tirés de la biochimie générale, identifier, essayer et contrôler, tant pour le mode de préparation que pour l'état de conservation, les poudres thérapeutiques préparées avec les organes des animaux.

CONCLUSIONS.

Nous avons déterminé la teneur en phosphore total et en phosphore lipidique des principaux organes d'animaux appartenant à des Mammifères d'espèces voisines et à un type d'Oiseau, de Batracien et de Poisson.

Ce travail ne représente qu'une faible partie d'une étude plus vaste à laquelle s'est attaché M. JAVILLIER avec ses collaborateurs.

Notre part personnelle, quand nous avons commencé ce travail, était prévue plus large et comportait, entre autres choses, l'application d'une méthode de dosage du phosphore nucléique à divers organes animaux. Ainsi aurions-nous pu associer à l'étude de la répartition du Phosphore total et du Phosphore lipidique celle du Phosphore nucléique.

Nous n'avons pu malheureusement donner à notre travail l'ampleur envisagée.

1° Après examen de deux autres méthodes, nous avons étudié la technique élégante et rapide de dosage du phosphore due à M. COPAUX. En établissant la façon dont elle se comporte lors de la détermination des très petites doses, nous en avons fait une véritable semi-microméthode.

2° La nécessité d'opérer, avant toutes choses, la destruction des tissus, nous a conduit à étudier de près diverses méthodes par voie sèche et par voie humide, à préciser les conditions de la destruction sulfonitrique, et à légitimer le choix que nous avons fait de cette méthode,

3° Le dosage du phosphore lipidique nous a amenée à faire l'examen critique des méthodes d'extraction des lipides et à y apporter certaines modifications de détails.

4° La nécessité de suspendre toute altération des tissus immédiatement après la mort des animaux, nous a conduite à les « stabiliser » par l'alcool bouillant, comme on le fait couramment pour des organes végétaux.

5° Dans le désir d'obtenir des chiffres représentant, pour chaque organe les teneurs moyennes d'un grand nombre d'organes identiques, nous avons employé entre autres matières premières, des poudres d'organes préparées industriellement dans des conditions à tous égards irréprochables. Nous avons dû nous rendre compte du bien fondé de cette technique et étudier l'influence des méthodes de prélèvement et de traitement des organes sur les résultats obtenus.

Nous avons constaté que les poudres d'organes fraîchement préparées donnaient des résultats excellents pour le dosage des lipides, et montré que les résultats devenaient beaucoup moins bons dans les mêmes poudres conservées depuis longtemps.

6° De l'ensemble des chiffres obtenus pour le phosphore total et le phosphore lipidique, nous avons pu tirer les conclusions suivantes :

a) *Chez un animal donné*, le taux du phosphore total pour cent de tissu frais est, pour des conditions physiologiques déterminées, assez constant et caractéristique de chaque organe. On peut parler d'une « constante » et d'un « indice de phosphore total » des organes, en attachant au mot de constante la valeur relative qu'on peut lui donner en biologie.

b) Pour un *organe donné* chez des *animaux d'espèces voisines*, le taux du phosphore total est aussi (à de rares

exceptions près) d'un ordre de grandeur voisin, de sorte que la notion de constante peut s'étendre à des organes d'espèces suffisamment rapprochées. Cette notion semble s'affirmer d'autant plus qu'il s'agit d'organes à fonction physiologique plus régulière. L'état physiologique des individus et des organes ne doit jamais, en effet, être perdu de vue -- et pour des organes soumis à de larges variations d'activité, la notion de l'existence d'une constante est difficile à vérifier.

c) L'étude du phosphore lipidique conduit à des considérations du même ordre. La notion de constante, établie par MM. MAYER et SCHAEFFER, se retrouve dans nos chiffres.

d) Le rapport $\frac{\text{P. lipidique}}{\text{P. total}}$ s'est montré constant, bien entendu, dans tous les cas où les indices étaient eux-mêmes constants, mais encore, fait plus intéressant, dans certains cas où ces facteurs s'étaient montrés assez largement variables.

L'exemple le plus remarquable en est fourni par le foie.

Nous avons tenté de donner une interprétation de l'ensemble de ces faits.

Enfin nous avons conféré à nos chiffres un intérêt d'ordre pratique en montrant qu'ils peuvent servir de base à l'établissement d'un principe nouveau pour l'identification et l'essai des poudres organothérapiques.

BIBLIOGRAPHIE.

1. BERTHELOT. — Chimie végétale. Meudon, t. IV, p. 96.
2. BERTHELOT. — Destruction par voie sèche pour le dosage du S, Cl, et P dans les végétaux. *C. R. Ac. Sc.*, 1899, p. 23.
3. BERTHELOT et ANDRÉ. — *Annales de Chimie et de Physique*, 1888, 6^e série, t. XV, p. 119 et 128.
- 3 bis. CAHN, Th. — Dégénérescence musculaire. Assimilation fonctionnelle et action nerveuse. *Thèse*, Strasbourg, 1926.
- 3 ter. CAHN, Th. — Recherches de physiologie générale sur les variations des équilibres des constituants cellulaires au cours du développement embryonnaire et du jeûne. *Thèse*, Paris, 1928.
4. COPAUX. — Procédé rapide pour doser l'acide phosphorique. *C. R. Ac. Sc.*, t. 173, p. 656, 1921.
5. DARIC. — Observations et expériences nouvelles sur le dosage rapide de l'acide phosphorique par la méthode de M. COPAUX. *Bull. Soc. Chim.*, t. 6, p. 409, 1924.
6. DENIGÈS. — *Bull. Soc. Pharm.*, Bordeaux, 1910, p. 195.
7. EMBDEN (1925). — Chemismus der Muskelkontraktion und Chemie der Muskulatur in *Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie*, VIII, 369, (Verlag. Jul. Springer).
8. EMBDEN. — Méthode gravimétrique pour le dosage de petites quantités d'acide phosphorique, *Zeitschrift f. physiol. Chem.*, t. 113, p. 138, 1921.

9. FONTÈS et THIVOLLE. — La molybdomanganimétrie et ses applications. *Bull. Soc. Chim. biol.*, t. 5, p. 782, 1923.
10. FOURNEAU. — Les Phosphatides. *Bull. Soc. Chim. biol.*, t. 2, 1920, p. 67.
11. FRANKEL. — *Zeitschrift für Biologie*, 1898, XXXVI, 592.
12. A. GAUTIER et P. CLAUSMANN. — Sur la méthode nouvelle de destruction des tissus pour la recherche de l'arsenic et l'examen de leurs cendres. *C. R. Ac. Sc.*, t. 165, p. 11-16, 1917.
13. GRÉGERSEN. — *Zeitschrift f. Physiol. Chem.*, t. 53, p. 453, 1907.
14. GRIGAUT. — *Soc. Pharm.* Séance du 5 nov. 1924, et *C. R. Soc. Biol.*, 1924, n° 31.
15. HARDEN. — La fermentation alcoolique, traduit de l'anglais par G. SCHAEFFER, 1913. Lib. scientifique Hermann et Fils, Paris (Ouvrage comportant la bibliographie de la question jusqu'à 1913).
16. HARTLEY et A. MAVROGORDATO. — On the nature of the fat contained in normal and pathological human livers. *Journal of Pathology and Bacteriology*, 1908, t. XII, p. 371-377.
17. HEUBNER. — Ueber den Phosphorgehalt tierischer Organe nach verschiedenartiger Fütterung. *Archiv. für exp. Path. und Pharmakol.*, t. 78, p. 24-82, 1915.
18. Mme H. HINGLAIS. — Sur l'application de la méthode de M. COPAUX au dosage de petites quantités de phosphore dans les tissus. *Bull. Soc. Chim. biol.*, t. 9, p. 540, 1927.
- 18 bis. H. HINGLAIS. — Dosage du chlore, du soufre et du phosphore dans les végétaux. *Bull. des Sc. Pharmacologiques*, n° 11, novembre 1926.
19. M. JAVILLIER. — *Ann. Soc. Agr.*, 1923, t. 40, p. 343.
20. M. JAVILLIER, H. ALLAIRE et Mlle GROC. — Sur un nouveau principe d'essai des poudres organothérapiques. *Soc. de Pharmacie*, 4 fév. 1925, et *Journ. Pharm. et Chim.*, t. I (8^e série), p. 513, 1925.

21. M. JAVILLIER, H. ALLAIRE et Mlle GROC. — L'analyse des poudres organothérapiques ; leur teneur en phosphore total, lipidique et nucléique. *Bull. Sc. Pharmacol.*, t. 32, p. 641, 1925.
22. M. JAVILLIER et H. ALLAIRE. — Sur le dosage du phosphore nucléique dans les tissus des animaux. *Bull. Soc. Chim. biol.*, t. 7, n° 5, mai 1925.
23. M. JAVILLIER et H. ALLAIRE. — Notion de l'existence d'un indice de phosphore nucléique. *C. R. Ac. Sc.*, t. 183, p. 162, 1926, et *Bull. Soc. Chim. biol.*, t. 8, p. 924, 1926.
24. M. JAVILLIER et H. ALLAIRE. — Bilans et rapports phosphorés des tissus. *C. R. Ac. Sc.*, t. 619, 1926 (Séance du 11 octobre 1926), et *Bull. Soc. Chim. biol.*, t. IX, n° 7, p. 772, 1927.
25. M. JAVILLIER, H. ALLAIRE et Mlle S. ROUSSEAU. — Phosphore nucléique, bilans et rapports phosphorés au cours de la croissance. *Bull. Soc. Chim. biol.*, t. IX, n° 7, p. 778.
26. M. JAVILLIER, Mlle A. CRÉMIEUX et Mme H. HINGLAIS. — Comparaison entre diverses espèces de vertébrés au point de vue des indices de phosphore nucléique et des bilans phosphorés de leurs organes. *Bull. Soc. Chim. biol.*, t. X, p. 327, 1928.
27. M. JAVILLIER et DJELATIDÈS. — Sur une méthode de microdosage volumétrique du phosphore et son application à l'analyse biologique. *Bull. Soc. Chim. biol.*, t. X, p. 342, 1928.
28. KEITH et FORBES. — A review of the literature of Phosphorus compounds in animal metabolism. *Ohio Agr. Exp. Station.*, Bull. n° 5, p. 332 et 506, 1914.
29. KLING et LASSIEUR. — Dosage du phosphore total dans le lait (Annales de falsifications).
30. KOHN-ABREST. — Méthode générale pour la recherche et le dosage de l'arsenic. *C. R. Ac. Sc.*, t. 171, p. 1179, 1920.
31. KÖNIG. — Chemie der menschlichen Nahrungs und Genussmittel.

32. KUMAGAWA et SUTO (1908). — Ein neues Verfahren zur quantitativen Bestimmung des Fettes und der unverseifbaren Substanzen in tierischen Matériel, etc. *Biochem. Ztschr.*, Band VIII, p. 212-347.
33. M. KUMAGAWA (1911). — Fettbestimmung nach KUMAGAWA-SUTO. *Handbuch der biochemischen Arbeits-Methoden*, Band V, Erster Teil, p. 477-488.
34. LAPICQUE. — Sur le dosage du fer dans les recherches physiologiques. Thèse (Faculté de Médecine de Paris), 1895.
35. LAUDAT. — Etude analytique des lipoides et des matières grasses du sérum sanguin appliquée à la physiologie et à la pathologie. Thèse, 1913.
36. J. B. LEATHES. — The functions of the liver in relation to the metabolism of fats. *Lancet*, 1909, I, 593-599.
37. J.-B. LEATHES. — Preliminary notes on the examination of the fat in the liver in health and diseases. *Lancet*, 1909, t. I, p. 95-98.
38. Mlle E. LEBRETON. — Sur la présence et le dosage dans le phosphore lipoidique total éthéro-soluble de composés phosphorés autres que les phosphatides. *Bull. Soc. Chim. biol.*, nov. 1921, t. III, p. 538-546.
39. LEMATTE. — Composition minérale des tissus de l'homme et des végétaux. *Journ. Pharm. et Chim.*, t. V, p. 335 et 361, 1927.
40. LEMELAND. — Recherches chimiques et physiologiques sur les matières grasses et les lipoides du sang. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1921, t. III, n  4, p. 152-156 et 164-167.
41. LEMELAND. — Etude critique de la méthode de KUMAGAWA-SUTO. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1922, t. IV, p. 300.
42. LEMELAND. — Observations sur le dosage du phosphore lipoidique total dans les tissus. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1922, t. V, n  2, p. 119.
43. LEVENE. — Structure and significance of the phosphatides. *Phys. Reviews*, V. 1, n  3, p. 327.
44. LEW. — Ueber die physiologischen Funktionen der Phosphors ure. *Biologisches Centralblatt*, 1891, t. XI, p. 269-281.

- 45 MAURICE. — Variations avec l'âge dans la teneur de quelques organes en phosphore total et en divers corps phosphorés. Thèse de Sciences, Fribourg, 1910.
46. MAC LEAN. — On the purification of Phosphatides. *Biochem. Journ.*, t. VI, p. 355, 1912.
47. MAC LEAN. — The composition of Lecithin together with observations on the distribution of phosphatides in the tissues, and methods for their extraction and purification. *Biochem. Journ.*, t. IX, p. 455, 1915.
48. MAC LEAN. — Lecithin and allied substances. Longmann, Green and Co, London, 1918.
49. MAYER et SCHAEFFER. — 1^o Recherches sur la teneur des tissus en lipoides. *Journ. de Physiol. et Path.*, 1913, t. XV.
Introduction et techniques, n^o 3, p. 511-534.
Teneur des tissus en phosphore lié aux lipoides, n^o 4, p. 773-788.
Lipoides du sang, n^o 5, p. 984-998.
50. MAYER et SCHAEFFER. — 2^o Recherches sur la variation des équilibres cellulaires Teneur des tissus en lipoides au cours de l'inanition absolue. *Journ. Physiol. et Path. gén.*, t. XVI, p. 203.
51. MAYER et SCHAEFFER. — Variations de la teneur en lipoides et activité physiologique des tissus. *Journ. Physiol. et Path. gén.*, t. XVI, n^o 3, p. 325 et 344.
52. MAYER et SCHAEFFER. — Recherches sur les constantes cellulaires. Teneur des tissus en eau. *Journ. Physiol. et Path. gén.*, 1914, p. 1-16 et p. 23-38.
53. MAYER et SCHAEFFER. — Coefficient lipocytyque. *C. R. Ac. Sc.*, CLVI, p. 487 et p. 1253.
54. MAYER et SCHAEFFER. — Composition chimique du sang et hémolyse. *C. R. Ac. Sc.*, t. 155, p. 728.
55. NEUMANN. — *Ztschr. f. physiol. Chem.*, XXXVII, p. 115, 1902-03.
56. POSTERNAK. — Sur le dosage de petites quantités d'acide phosphorique à l'état de phospho-molybdate de baryum

- en présence et en l'absence du phosphore en combinaison organique. *Bull. Soc. Chim* , 1920, 4^e série, t 27, p. 507-564.
57. POSTERNAK. — Notes sur les variations de la composition du phospho-molybdate d'ammonium. *C. R. Ac. Sc.*, 1920, t. 170, p. 930.
58. POUGET et CHOUGHAK. — Dosage colorimétrique de l'acide phosphorique. *Bull. Soc. Chim.*, t. V, p. 104, 1909.
59. PREGL. — La micro-analyse quantitative. Traduction NICLOUX.
60. THUDICHUM. — *Ztsch. für physiol. Chem.*, t. 51, p. 71, 1907.
61. VLADESCO. — Adaptation de la méthode COPAUX au dosage des phosphates urinaires. *C. R. Soc. Biol.*, 91, 1924.
62. ZUTU. — Recherches sur deux méthodes de dosage de l'acide phosphorique. Application à l'étude des glycéro-phosphates et du phosphore organique urinaire. Thèse Doct. Pharmacie, 1926, p. 61.
-

DEUXIÈME THÈSE.

Propositions données par la Faculté :

L'hydratation du protoplasma suivant sa composition
propre et suivant les conditions ambiantes

Vu et approuvé :

Paris, le 25 juillet 1928.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Pour le Doyen :

L'Assesseur,

JEAN PERRIN.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

Pour le Recteur :

L'Inspecteur de l'Académie,

A. MAURELLET.

TABLE DES MATIÈRES.

	Pages
INTRODUCTION. — But et plan du travail.....	1
CHAPITRE PREMIER. — Le dosage du phosphore en Chimie biologique. Examen de trois semi-microméthodes récentes.....	9
Méthode de M. POSTERNAK.....	10
— de MM. EMBDEN-JAVILLIER	17
— de M. COPAUX. — Recherches person- nelles sur cette méthode.....	21
CHAPITRE II. — La destruction des tissus en vue du dosage du phosphore.....	39
Méthodes par voie sèche.....	40
— par voie humide.....	44
CHAPITRE III. — Résultats du dosage du phosphore dans les organes de divers Vertébrés.....	51
CHAPITRE IV. — Extraction des lipides et dosage du phosphore lipidique.....	75
I. Conditions de récolte et de conservation du tissu.....	77
II. Extraction des lipides totaux	88
III. Isolement des phosphatides	92
IV. Minéralisation des phosphatides et dosage du phosphore.....	98

CHAPITRE V. — Résultats du dosage du phosphore lipidique dans les organes de divers Vertébrés.....	99
CHAPITRE VI. — Etude du rapport $\frac{\text{phosphore lipidique}}{\text{phosphore total}}$ dans les organes de divers Vertébrés.....	143
CHAPITRE VII. — Application des données précédentes, et d'une façon plus générale, de l'étude des bilans et rapports phosphorés à la caractérisation et à l'essai des poudres organothérapiques.....	127
CONCLUSIONS	143
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	147



